



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

Piómetra na cadela e na gata: diferenças e semelhanças

Inês Fernandes Machado

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Constança Matias
Ferreira Pomba

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

Doutora Ana Catarina Belejo Mora
Torres

ORIENTADOR:

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

CO-ORIENTADOR:

Dra. Joana Filipa Paiva de Ferreira
Gomes Carneiro

2017
LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

Piómetra na cadela e na gata: diferenças e semelhanças

Inês Fernandes Machado

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Constança Matias Ferreira
Pomba

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus
Doutora Ana Catarina Belejo Mora Torres

ORIENTADOR:

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

CO-ORIENTADOR:

Dra. Joana Filipa Paiva de Ferreira
Gomes Carneiro

2017
LISBOA

Ao meu pai.

AGRADECIMENTOS

Esta é a parte mais importante de todo este trabalho. Onde constam as pessoas que me ajudaram a realizar aquele que é o maior sonho da minha vida. Por isso agradeço:

À minha mãe, pelo amor incondicional e dedicação que tem por mim e pelos meus irmãos, por ter sido mãe e pai e por ter permitido sempre que eu realizasse os meus sonhos. Obrigada por estares sempre presente.

À professora Luísa Mateus, a quem não tenho palavras para descrever toda a gratidão que sinto por ter sido minha orientadora. Que me ajudou e ensinou de forma incansável, que esteve disponível em todas as ocasiões e que mais que uma orientadora tornou-se numa amiga que levo para a vida. Obrigada por tudo e por ser um exemplo para mim.

Aos meus irmãos que apesar das brigas e birras diárias são o grande amor da minha vida.

Aos meus avós, que serão sempre o maior exemplo da minha vida, pela paciência e amor pelas coisas simples da vida.

À Ana, à Daniela, à Susana e à “Xafarica” por esta amizade, em que ninguém fica para trás. Mas em especial à Daniela por toda a ajuda e companheirismo ao longo da escrita da tese.

À Raquel, à Rafa, ao Ruben, à Inês, à Jéssica e à Sofia que tornaram estes anos mais animados e que sem dúvida são amigos que levo para a vida.

Ao Luís, ao Rui, à Carolina e à Margarida por todo o apoio e amizade nos últimos tempos.

À Tita, à Cleo, ao Musho, à Minnie, ao Snoopy e à Jasmim pelo amor que só eles sabem transmitir. E a todos os animais com os quais tive a oportunidade de aprender.

A todo ao hospital da FMV-UL. Mas especialmente à minha “Unicórnica” pelo seu bom coração e todo o carinho com que me recebeu e ajudou ao longo destes meses de estágio.

À Dr.^a Joana Gomes, pela ajuda e boa disposição ao longo destes meses.

À minha “Martinha *E. coli*”, que tive o privilégio de conhecer nos meus últimos meses de estágio, que me ajudou sem medida em todos os momentos da escrita da minha tese e nos procedimentos laboratoriais, mas acima de tudo por ter sido uma excelente amiga.

Ao Gonçalo Pereira, por todos os momentos em que aturou o meu mau humor e por todo o companheirismo ao longo deste ano.

À Beatriz Lourenço, pela compreensão, ajuda e amizade que ficou deste estágio.

A todo o departamento de Reprodução e Obstetrícia, mas em especial à Doutora Elisabete Silva e à Mestre Patrícia Diniz, pelo carinho e amizade com que me receberam naquele corredor, pela alegria contagiante que têm todos os dias e por toda a ajuda ao longo deste processo.

À Maria João Carvalho, ao Miguel Caninhas e à Rafaela Lalande pelo exemplo que são para mim como médicos veterinários, mas acima de tudo como pessoas.

À Vanessa, à Eva, à Mónica e à Marlene por toda a ajuda e ensinamentos nos últimos anos.

À Doutora Sílvia, por me ter ajudado de forma incansável na busca de casos clínicos para a minha tese.

À Mvet-Moita, à VetAlcochete, à AZvet, ao Hospital veterinário da Estefânia e à IZCQ pela disponibilidade e ajuda na recolha de casos clínicos. Sem os quais este trabalho não teria sido possível.

À D^a Maria do Rosário, por toda a ajuda no processamento do material no laboratório de Anatomia Patológica.

À Carla Carneiro, por toda a ajuda no laboratório de Bacteriologia, mas acima de tudo pela disponibilidade em esclarecer todas as minhas dúvidas e em ajudar-me em tudo o que precisei.

Ao Doutor Hugo Pissarra, pela disponibilidade e ajuda na classificação histopatológica.

Ao Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA) pelo apoio financeiro concedido e por ter permitido a utilização das suas instalações e equipamentos para a elaboração deste trabalho.

Resumo

Piômetra na cadela e na gata: diferenças e semelhanças.

A piômetra é a doença do foro reprodutivo mais importante em cadelas e gatas intactas, devido à diminuição do potencial reprodutivo e ao risco de vida a que os animais estão sujeitos. O objetivo deste estudo foi contribuir para a caracterização da piômetra por *Escherichia coli* na cadela e na gata, de forma a melhorar a abordagem clínica nestes animais em situações de suspeita de piômetra. Verificou-se que as cadelas (10 anos) desenvolveram piômetra mais tarde que as gatas (3 anos) ($p < 0,001$). O corrimento vulvar esteve presente na maioria das fêmeas em estudo, no entanto os restantes sinais clínicos foram mais frequentes e evidentes na cadela. A Poliúria/Polidipsia esteve presente em 93% das cadelas e em apenas 9% das gatas ($p < 0,001$) e a anorexia em 87% e 45% dos casos, respetivamente ($p < 0,05$). No hemograma, as principais alterações detetadas na maioria dos animais em estudo foram a leucocitose marcada e a neutrofilia com desvio à esquerda. No entanto, a anemia foi detetada mais frequentemente nas cadelas (47%) do que nas gatas (18%) ($p < 0,05$). Todos os isolados de *E. coli* pertenciam ao grupo filogenético B2, no entanto, o fenótipo hemolítico só esteve presente em 56% dos isolados de cadela, em comparação com 92% dos isolados de gata ($p < 0,05$). Histologicamente, 60% das piômetras de cadela foram classificadas como hiperplásicas e 91% das piômetras de gata classificadas como atróficas. As alterações histopatológicas avaliadas foram mais evidentes nos úteros de gatas, o que se refletiu na presença de metrite em todas as piômetras atróficas nesta espécie. Na cadela, a metrite só foi evidente em 67% das piômetras atróficas.

Em conclusão, *E. coli* pertencente ao grupo filogenético B2 foi a bactéria mais frequentemente isolada em ambas as espécies. No entanto, o fenótipo hemolítico foi mais frequente nos isolados de gata, o que poderá estar associado a alterações histológicas mais marcadas ao nível do útero. O facto de as gatas apresentarem sinais clínicos menos exuberantes e desenvolverem piômetra numa idade mais precoce da sua vida reprodutiva chama a atenção para a importância de uma anamnese e exame físico completo e exaustivo.

Palavras-chave: Piômetra, Cadela, Gata, *Escherichia coli*

Abstract

Pyometra in the bitch and in the queen: differences and similarities

Pyometra is the most important uterine disease diagnosed during diestrus in intact bitches and queens. It often results in the loss of breeding potential and in a life threatening scenario. The aim of this study was to contribute to the characterization of *Escherichia coli* pyometra in queens (QG) and bitches (BG), in order to improve the clinical approach in situations of suspicion of pyometra. In study, bitches developed pyometra later (10 years) than queens (3 years). Although in both groups, the majority of the pyometra were open, bitches presented more clinical signs and significant differences were detected in the following parameters: polyuria and polydipsia (93% BG versus 9% QG; $p < 0.001$); anorexia (87% BG vs 45% QG; $p < 0.05$); prostration and lethargy (89.5% BG vs 50% QG; $p < 0.05$).

Concerning haematologic analysis, no significant differences between groups were detected, excepted for monocytosis ($p < 0.05$) and a slight decrease in Hemoglobin concentrations ($p = 0.07$). In both groups, animals present leukocytosis due to neutrophilia; lower number of erythrocytes and lower hematocrit. Concerning biochemical analysis, most parameters were within normal range and no significant differences between groups were detected for the parameters evaluated.

Canine (94.1%) and feline (100%) *E. coli* isolates were assigned to the phylogenetic group B2. Overall, 56 % and 92% of canine and feline *E. coli* isolates exhibited hemolytic (β HEC) phenotype ($p < 0.05$), respectively. β HEC were associated with 90% and 64% of the metritis cases in the QG and BG, respectively ($p > 0.05$). In QG, all metritis cases were associated with atrophic pyometra, while in BG, metritis was only evident in 67% of the atrophic pyometra. Atrophic pyometra was observed in 91% ($n=10$) and 40% ($n=6$) of QG and BG pyometra, respectively ($p < 0.05$).

In conclusion, queens developed pyometra at an earlier age. This fact and the presence of higher number of phylogenetic B2 β -hemolytic *E. coli* isolates may be the reason for the uteri to display more severe histological alterations. Queens present less clinical signs, which may render the diagnosis of pyometra more difficult. This fact shows the importance of a good and complete anamnesis and physical examination.

Keywords: Pyometra, Bitch, Queen, *Escherichia coli*

ÍNDICE GERAL

| | |
|---|------|
| AGRADECIMENTOS | i |
| RESUMO | iii |
| ABSTRACT | v |
| ÍNDICE GERAL | vii |
| ÍNDICE DE TABELAS | ix |
| ÍNDICE DE FIGURAS | x |
| ÍNDICE DE GRÁFICOS | viii |
| ÍNDICE DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS | xi |
| RELATÓRIO DE ESTÁGIO | 1 |
| INTRODUÇÃO E OBJETIVOS | 4 |
| REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 6 |
| 1. Complexo hiperplasia quística do endométrio-piômetra | 6 |
| 1.1. Piômetra..... | 8 |
| 1.1.1. Incidência..... | 8 |
| 1.1.2. Etiologia..... | 10 |
| 1.1.3. Sinais clínicos..... | 12 |
| 1.1.4. Diagnóstico..... | 14 |
| 1.1.5. Tratamento..... | 19 |
| 2. <i>Escherichia Coli</i> | 25 |
| 2.1. Grupos Filogenéticos..... | 27 |
| MATERIAIS E MÉTODOS | 29 |
| 1. Amostra analisada..... | 29 |
| 1.1. Anamnese..... | 29 |
| 1.2. Exames Complementares..... | 29 |
| 1.3. Determinação da fase do ciclo éstrico..... | 30 |
| 1.4. Análise bacteriológica do corrimento vulvar/conteúdo intrauterino..... | 31 |
| 1.5. Caracterização dos isolados de <i>Escherichia coli</i> | 31 |
| 1.6. Caracterização histopatológica do útero e dos ovários..... | 33 |
| 1.7. Análise estatística..... | 33 |

| | |
|---|----|
| RESULTADOS | 34 |
| 1. Análise histopatológica | 34 |
| 2. Piómetra | 36 |
| 2.1. Análise bacteriológica | 36 |
| 2.2. Piómetras por <i>Escherichia coli</i> | 36 |
| 2.2.1. Caracterização do Grupo Filogenético e do fenótipo | 36 |
| 2.2.2. História Reprodutiva | 37 |
| 2.2.3. Sinais clínicos | 38 |
| 2.2.4. Exame físico | 39 |
| 2.2.5. Hemograma | 39 |
| 2.2.6. Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica | 40 |
| 2.2.7. Bioquímicas séricas | 40 |
| 2.2.8. Concentração de progesterona | 41 |
| 2.2.9. Classificação histopatológica | 41 |
| DISCUSSÃO | 47 |
| CONCLUSÃO | 52 |
| BIBLIOGRAFIA | 53 |
| ANEXOS | 62 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1- Critérios de avaliação das alterações patológicas no útero, adaptado de De Bosschere <i>et al.</i> , (2001) | 7 |
| Tabela 2- Prevalência dos sinais clínicos mais comuns na piómetra na cadela e na gata (Adaptado de Mateus & Eilts, 2010). | 13 |
| Tabela 3- Protocolos utilizados no tratamento de piómetra em cadela e gata. | 24 |
| Tabela 4- Critérios para o diagnóstico de SRIS. | 30 |
| Tabela 5- Testes de identificação bioquímica utilizados para identificação da família dos isolados. | 31 |
| Tabela 6- Sequência dos oligonucleotídeos iniciadores e tamanhos dos fragmentos amplificados, adaptado de Doumith et al. (2012). | 32 |
| Tabela 7- Classificação histopatológica dos úteros de cadelas e gatas em estudo. | 34 |
| Tabela 8- Prevalência das alterações histopatológicas. | 35 |
| Tabela 9- Distribuição dos fenótipos dos isolados de <i>E. coli</i> pertencentes ao grupo filogenético B2. | 37 |
| Tabela 10- Exame físico | 39 |
| Tabela 11- Resultados obtidos no hemograma | 40 |
| Tabela 12- Resultados obtidos nas bioquímicas séricas. | 41 |
| Tabela 13- Valores de progesterona em piómetras abertas e fechadas. | 41 |
| Tabela 14- <i>Prevalência das alterações histopatológicas no útero</i> | 42 |
| Tabela 15- Glândulas endometriais com células de reação inflamatória. | 43 |
| Tabela 16- Associação entre classificação histológica e a presença de corrimento vulvar em piómetras de cadela e gata. | 44 |
| Tabela 17- Distribuição de idades por piómetra atroficas e hiperplásicas. | 44 |
| Tabela 18- Alterações histopatológicas ováricas. | 45 |
| Tabela 19- Exame físico. | 64 |
| Tabela 20- Hemograma. | 64 |
| Tabela 21- Bioquímicas séricas. | 65 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1- Útero de cadela com piómetra..... | 8 |
| Figura 2- Útero de gata com piómetra..... | 9 |
| Figura 3- Síndrome remanescente ovárico numa cadela. | 14 |
| Figura 4- Citologia vaginal de piómetra em cadela. | 15 |
| Figura 5- Radiografia de piómetra de cadela e gata..... | 18 |
| Figura 6- Imagem ecográfica de piómetra em cadela e gata | 18 |
| Figura 7- Esquema de determinação do grupo filogenético de E. coli, adaptado de Clermont et al, 2000. | 28 |
| Figura 8- Aspecto histopatológico de HQE em gata e piómetra em cadela..... | 34 |
| Figura 9- Aspeto histopatológico de adenoma e adenocarcinoma papilar do ovário e tumor das células da granulosa. Aspeto macroscópico de leiomioma..... | 35 |
| Figura 10- Conteúdo uterino recolhido em piómetras de cadela e gata | 38 |
| Figura 11- Exemplos de alterações histopatológicas em úteros de gatas diagnosticadas com piómetra | 42 |
| Figura 12- Exemplos de alterações (macroscópicas e microscópicas) encontradas em úteros de cadelas e gatas com piómetra. | 43 |
| Figura 13- Exemplo de piómetra hiperplásica em cadela e piómetra atrófica em gata..... | 44 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| Gráfico 1 - Coabitação das fêmeas em estudo com outros animais..... | 37 |
| Gráfico 2- Prevalência dos sinais clínicos na cadela e na gata. | 38 |
| Gráfico 3- Sinais clínicos..... | 64 |

ÍNDICE DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

°C- Celsius

%- Percentagem

µg- Micrograma

µL- Microlitro

µm- Micrómetro

ADN- Ácido desoxirribonucleico

ALT- Alanina aminotransferase

AST- Aspartato aminotransferase

ADH- Hormona antidiurética

AIEC- *E. coli* aderente invasiva

AZevet- Clínica Veterinária de Brejos de Azeitão, Lda.

ARN- Ácido ribonucleico

BID- Duas vezes por dia

Bp- Pares de bases

CNF1- Fator citotóxico necrosante 1

Clínica IZQC Tercena (Instituto Zoófilo Quinta Carbonne)

COS- Agar Columbia suplementado com 5% de sangue de carneiro

CIISA- Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal

EP- Endometrite- piómetra

E2- Estrogénio

E. coli- *Escherichia coli*

EXPEC- *E. coli* patogênica extraintestinal

EPEC- *E. coli* enteropatogénica

ETEC- *E. coli* enterotoxigénica

EHEC - *E. coli* enterohemorrágica

EAEC- *E. coli* enteroagregativa

EIEC- *E. coli* enteroinvasiva

EDTA- ácido etilenodiamino tetra-acético

FAS- Fosfatase Alcalina

FC- Frequência cardíaca

FR- Frequência respiratória

H- Hemolítica

H&E- Hematoxilina & Eosina

HQE-P- Complexo hiperplasia quística do endométrio

HQE- Hiperplasia quística do endométrio

HQEM- Hiperplasia quística do endométrio- mucómetra

HQEL- Hiperplasia quística do endométrio ligeira

HQEG- Hiperplasia quística do endométrio grave

HEFMV-UL- Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa,

HVE- Hospital Veterinário da Estefânia

HlyA- α -hemolisina

IL-1- Interleucina 1

IL-6- Interleucina 6

ITU- Infecções do trato urinário

INPEC- *E. coli* patogênica intestinal

IMViC- Indol, vermelho de Metil, Voges-Proskauer e Citrato

Kg- Kilograma

LPS- Lipopolissacárido

M- Mucóide

MVET- Moita- Clínica MVET- Moita

ml- Mililitro

mg- Miligrama

Ng- Nanograma

NH- Não hemolítica

NM- Não mucóide

NMEC- *E. coli* associada a meningites neonatais

OVH- Ovariohisterectomia

P4- Progesterona

PD- Polidipsia

PGE2- prostaglandina E2

PGF2 α - prostaglandina F2 α

PGFM- metabolito da PGF2 α

PO- via oral

PU- Poliúria

PCR- Reação de polimerase em cadeia

RE- Recetores de estrogênio

RP- Recetores de progesterona

Rpm- Respirações por minuto

rpm- Rotações por minuto

RX- Radiografia

Sc- subcutânea

SEPEC- *E. coli* associada a sépsis

SRIS- síndrome de resposta inflamatória sistémica

TNF- Fator de necrose tumoral

TSA- Teste de sensibilidade a antibióticos

TID- Três vezes por dia

UPEC- *E. coli* uropatogénica

UIDI- Unidade de Isolamento de Doenças Infeciosas

RELATÓRIO DE ESTÁGIO

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária decorreu no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (HEV-FMV- ULisboa) tendo como orientadora a Professora Luísa Mateus (Reprodução e Obstetrícia) e como coorientadora a Dr.^a. Joana Gomes Carneiro (Médica Veterinária responsável pelo Internamento do HEV-FMV-ULisboa). Este estágio teve a duração de 6 meses, durante os quais tive a possibilidade de passar pelos diferentes serviços do hospital.

O horário do estágio variou consoante o serviço em causa. Em medicina interna o horário era das 8H às 16H ou das 13H às 21H perfazendo um total de 8 horas diárias; em Imagiologia o horário era o mesmo que o de Medicina Interna, sendo Radiologia e Tomografia no primeiro horário mencionado e Ecografia no segundo; no Internamento os turnos eram de 12H, entre as 8H e as 20H e vice-versa; em cirurgia, o horário era das 8H às 16H ou até à realização da última cirurgia e na Unidade de Isolamento de Doenças Infeciosas (UIDI) o horário era das 16H às 21H.

Dos 6 meses de estágio, quatro foram passados no serviço de Medicina Interna. Nestes serviços tive a oportunidade de assistir a consultas de medicina Interna Geral e de Especialidade, intercaladas com dias no serviço de Imagiologia, no Internamento e na UIDI.

Nas consultas de Medicina Interna Geral tive a possibilidade de desenvolver e melhorar as capacidades: de comunicação com o dono do animal; de realização da história pregressa e do exame de estado geral completo; de melhorar o raciocínio clínico, ter um maior contacto com a abordagem à eutanásia e a participação em diversas intervenções, como por exemplo: vacinação, colocação do microchip, algaliação, colocação de pensos e cateteres, entre outros.

Em Imagiologia fiz a receção do animal e a monitorização da anestesia e tive a possibilidade de colocar em prática os conhecimentos obtidos ao longo do curso: posicionar o animal da forma mais adequada a cada exame e projeção, a identificar corretamente os diversos órgãos em situações normais e anormais e correlacionar as mesmas imagens com o estado geral do animal e análises de forma a chegar a um diagnóstico correto.

Dentro do leque de consultas de Especialidade que o Hospital Escolar oferece dediquei-me maioritariamente às consultas de Reprodução e Obstetrícia realizadas pela minha orientadora, onde tive a oportunidade de aprender a diagnosticar, através da ecografia: gestações, piómetras, hiperplasias benignas prostáticas, tumores testiculares, entre outros. Assisti também a recolhas de sémen em cães e inseminações artificiais em cadelas e sempre que possível foi-me permitido participar em todos os diagnósticos e intervenções, como: ecografias, recolhas de sangue para o doseamento de progesterona e citologias vaginais para a determinação das diferentes fases do ciclo éstrico na cadela e na gata. Também assisti às

consultas de Exóticos, onde aprendi a abordar e a examinar, assim como as doenças mais frequentes, em alguns destes animais. Com menor frequência assisti às consultas de Gastroenterologia e Dermatologia.

No internamento, a minha função era monitorizar os animais internados, preparar e administrar a medicação dos mesmos ao longo do dia e fazer a gestão da alimentação, passeios e cuidados de higiene e bem estar. Este esquema possibilitou-me a revisão de tratamentos de muitas doenças e relacioná-los com o estado geral em que o animal se encontrava. Nestes dias, também havia discussão de casos dos animais internados o que era essencial para esclarecimento de dúvidas e para o reajustamento de qualquer tipo de tratamento que tivesse a ser aplicado.

Na UIDI, tive a oportunidade de contactar com doenças infeto-contagiosas, nomeadamente Parvovirose, Panleucopénia, Esgana e Leptospirose. Neste serviço aprendi a importância da utilização da proteção individual com vista a diminuição da contaminação dos restantes animais e pessoas e desempenhei as mesmas funções que no Internamento.

Os dois meses restantes foram passados em cirurgia, intercalados com os meses de Medicina Interna. Neste serviço são realizadas diferentes cirurgias com a utilização de diversos equipamentos e procedimentos. Pelo que tive a possibilidade de participar em todos os passos desde a receção cuidada do animal (Exame estado geral, confirmação do jejum e da normalidade das análises pré-cirúrgicas e esclarecimento de quaisquer dúvidas dos donos face ao processo em questão), preparação da sala de cirurgia e do animal (colocação do cateter, tricotomia e desinfeção da zona alvo), da indução da anestesia e monitorização da mesma e de ajudar a realizar ovariectomias, orquiectomias, esplenectomias, entre outras cirurgias. Assim como, a realização completa de outros atos cirúrgicos como: suturas, limpeza e desinfeção de feridas e destarizações.

Ao longo dos 6 meses de estágio, os estagiários reuniam-se semanalmente com a Dr^a. Joana Pontes, com a qual fazíamos apresentações sobre diversos temas de medicina interna e esclarecimento de dúvidas de diversos temas que nos eram distribuídos.

Na recolha de casos para a minha tese de Mestrado visitei Clínicas/ hospitais diferentes, para além do HEV-FMV-ULisboa, nomeadamente a AZevet- Clínica Veterinária de Brejos de Azeitão, Mvet- Clínica Veterinária da Moita, a Clínica IZQC Tercena (Instituto Zoófilo Quinta Carbonne) e o Hospital Veterinário da Estefânia. As visitas a estes diferentes locais deram-me a possibilidade de observar diferentes metodologias de trabalho, de abordagem ao cliente e de tratamentos, o que foi bastante enriquecedor.

Ao longo do estágio na faculdade e após o mesmo frequentei o laboratório de Bacteriologia, onde com o auxílio da Dr.^a Carla Carneiro, coloquei em prática procedimentos adquiridos em

Microbiologia. No laboratório de Anatomia Patológica, juntamente com a Professora Luísa Mateus fiz os cortes de todas as minhas amostras, que mais tarde após o processamento foram observadas ao microscópio por mim com a ajuda do Dr. Hugo Pissarra e da Professora Luísa Mateus.

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A piómetra consiste numa infecção bacteriana a nível do útero, com acumulação de exsudado purulento e que na maioria dos casos está associada a sinais clínicos sistémicos. É a doença do foro reprodutivo mais importante em cadelas e gatas intactas, detetada maioritariamente em diestro, e pode levar à diminuição do potencial reprodutivo e colocar em risco a vida dos animais (revisto por Mateus & Eilts, 2010).

As cadelas e gatas de meia-idade e geriátricas, nulíparas ou que estiveram sob a ação de anticoncepcionais apresentam maior predisposição para o aparecimento desta infecção (Revisto por Mateus & Eilts, 2010). No entanto, a incidência de piómetra em gatas é considerada menor que nas cadelas, devido às particularidades do seu ciclo éstrico e por não apresentarem sinais clínicos na mesma extensão que a cadela (Hollinshead & Krekeler, 2016).

Devido a estas particularidades e ao facto de não existirem tantos estudos em gatas, neste estudo procurou-se contribuir para a caracterização da piómetra na cadela e na gata, de forma a melhorar a abordagem clínica em situações de suspeita de piómetra. Assim, os objetivos deste trabalho consistiram em identificar e comparar determinados parâmetros, como:

- (1) O historial reprodutivo com vista à identificação de fatores predisponentes;
- (2) Sinais clínicos mais prevalentes;
- (3) Perfil dos parâmetros sanguíneos (hemograma, bioquímicas séricas, concentração de progesterona);
- (4) Agente bacteriano mais prevalente;
- (5) Caracterização macroscópica e histológica do útero e ovários.

Este trabalho deu origem a 3 comunicações em forma de painel, as quais foram aceites para apresentação em Congressos Internacionais da Especialidade:

I Machado, C Carneiro; L Belo; S Cruz; J Gomes; L Mateus. **Pyometra in the bitch and in the queen: differences and similarities**. 20º Congresso da European Veterinary Society of Small Animal Reproduction (EVSSAR), 29 de Junho – 1 de Julho de 2017, Viena de Áustria, Áustria (Anexo 1).

I Machado; MF Silva; H Pissarra, L Costa, L Mateus. ***Escherichia coli* pyometra in the bitch and in the queen: histological differences and similarities**. 14º Congresso Internacional da Associação Espanhola de Reprodução Animal (AERA), 9 a 11 de Novembro, Barcelona, Espanha.

MF Silva; I Machado; C Carneiro; P Diniz; L Mateus; E Silva. **Phenotype and phylogenetic group characterization of canine and feline pyometra *E. coli* isolates**. 14º Congresso Internacional da Associação Espanhola de Reprodução Animal (AERA), 9 a 11 de Novembro, Barcelona, Espanha.

Este trabalho foi realizado no âmbito dos projetos CIISA 6.2016 e MIVM 19.2017, tendo sido financiado pelo Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Complexo hiperplasia quística do endométrio-piômetra

O complexo Hiperplasia Quística do Endométrio- Piômetra (HQE-P) é a doença do foro reprodutivo mais importante e frequente em cadelas e gatas intactas. Pode ter carácter agudo ou crónico e ter repercussões sistémicas (Revisto por Mateus & Eilts 2010; Keskin, Yilmazbas, Yilmaz, Ozyigit, & Gumen, 2009; Arora, Sandford, Browning, Sandy, & Wright, 2006).

Ao longo do ciclo éstrico, o útero da cadela e da gata sofre alterações morfológicas, devido à influência da progesterona e do estrogénio. A Hiperplasia Quística do Endométrio (HQE) é uma resposta crónica anormal do útero a estas hormonas no decorrer de vários ciclos, não estando associada a alterações sistémicas e morte do animal (De Bosschere, Du catelle, Vermeirsch, Van Den Broeck, & Coryn, 2001; Keskin *et al.*, 2009). Esta afeção pode ainda ser induzida pela administração das hormonas acima referidas em doses elevadas e por longos períodos de tempo, por biópsias e escarificações uterinas e por materiais irritantes como material de sutura (Arora *et al.*, 2006). A piômetra é uma doença crónica e de manifestação aguda, detetada maioritariamente em diestro. Esta doença do foro reprodutivo é por definição uma infeção bacteriana ao nível do útero com a consequente acumulação de exsudado purulento no lúmen. Na maioria dos casos, está associada a sinais sistémicos e pode mesmo levar à morte do animal, o que ocorre em cerca de 5,7% a 8% das gatas e 3% a 4% das cadelas (Egenvall *et al.*, 2001; Revisto por Mateus & Eilts 2010; Hagman, Strom Holst, Muller, & Egenvall, 2014; Pires *et al.*, 2016). Clinicamente, a piômetra pode ser classificada como aberta ou fechada, consoante a presença ou ausência de corrimento vulvar, respetivamente (Jitpean, Ambrosen, Emanuelson, & Hagman, 2016).

Inicialmente, a HQE e a Piômetra eram definidas como uma doença única (Dow, 1958). De acordo com esta teoria, as alterações morfológicas que ao longo do tempo levam ao desenvolvimento de HQE tornam o útero suscetível a infeções bacterianas e ao posterior desenvolvimento da piômetra (Hollinshead & Krekeler, 2016). Em 2001, De Bosschere e colaboradores, demonstraram que a HQE nem sempre precede a piômetra (H. De Bosschere *et al.*, 2001). Enquanto a HQE se desenvolve após vários ciclos éstricos, a piômetra pode desenvolver-se em animais jovens, sem evidência de HQE. Para além disso, todas as cadelas desenvolvem HQE com a idade, embora só algumas desenvolvam piômetra. Desta forma, foi proposta uma nova classificação destas entidades clínicas tendo em conta as alterações morfológicas, histológicas e a manifestação clínica (De Bosschere *et al.*, 2001; Verstegen, Dhaliwal, & Verstegen-Onclin, 2008).

Nesta classificação, foram estabelecidos dois grupos distintos: HQE-Mucómetra (HQEM) e Endometrite-Piômetra (EP). Os animais com HQE-Mucómetra são clinicamente saudáveis e apresentam lesões uterinas, podendo ser incluídos em três categorias: HQE ligeira (HQEL),

HQE grave (HQEG) e Mucómetra. Os animais com Endometrite-Piômetra poderão pertencer às categorias de Endometrite, Piômetra hiperplásica e Piômetra atrófica e apresentam sintomatologia associada ao processo inflamatório (tabela 1) (De Bosschere *et al.*, 2001). De igual forma, tendo em conta a intensidade e distribuição dos recetores de estrogénio (RE) e de progesterona (RP), De Bosschere e colaboradores (2002b), reforçaram a ideia de que a HQE e a piômetra são duas entidades distintas. Contudo, apesar da HQE-mucómetra e endometrite-piômetra serem consideradas entidades distintas, não se exclui a hipótese de animais com HQE-mucómetra estarem predispostos a endometrite-piômetra (De Bosschere *et al.*, 2001).

Tabela 1- Critérios de avaliação das alterações patológicas no útero, adaptado de De Bosschere *et al.*, (2001)

| Grupo | Reação inflamatória | Área * | Histologia dos quistos | Rácio Endométrio/ miométrio | Proliferação fibroblástica |
|------------------------------|----------------------------|---------------|---|------------------------------------|-----------------------------------|
| Normal | Negativa | < 25% | Sem quistos | Valor de referência: 0,78 | Negativa |
| HQE ligeira | Negativa | < 25% | Poucos/ pequenos quistos | Aumentado | Negativa |
| HQE grave | Negativa | >25% | Muitos/ grandes quistos | Aumentado | Negativa |
| Mucómetra | Negativa | <10% | Sem quistos | Muito diminuído | Negativa |
| Endometrite | Ligeira | < 25% | Sem ou poucos quistos de pequenas dimensões | Aumentado | Suave |
| Piômetra hiperplásica | Grave | >25% | Muitos quistos de grandes dimensões | Aumentado | Moderada |
| Piômetra atrófica | Grave | <10% | Sem quistos | Muito diminuído | Negativa |

* Percentagem de endométrio ocupado por glândulas (limites escolhidos arbitrariamente pelos autores: De Bosschere *et al.*, 2001).

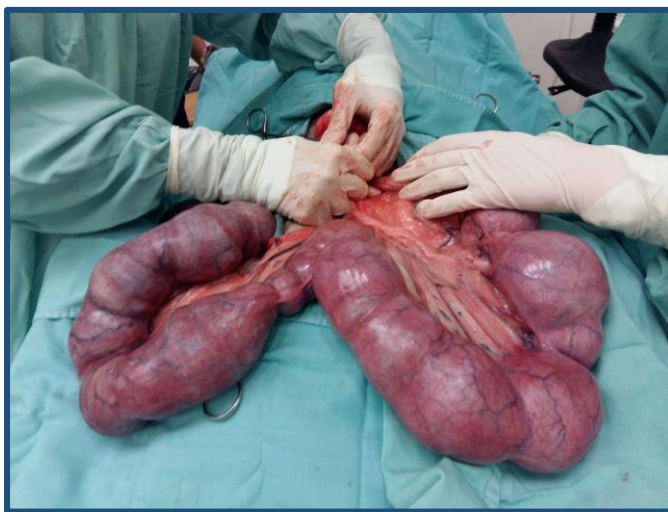
1.1 Piómetra

1.1.1 Incidência

Existem diversos fatores que influenciam o aparecimento da piómetra. Por exemplo, animais com excesso de peso apresentam maior predisposição para o desenvolvimento da doença devido ao ambiente pró-inflamatório associado com a obesidade (resultado do aumento da capacidade de secreção de citocinas e da diminuição da sensibilidade à insulina por parte destas) juntamente com um aumento da conversão de hormonas esteróides pelo tecido adiposo (Pöpl, 2008).

Na cadela, a piómetra (figura 1) ocorre frequentemente entre os 8 e os 11 anos de idade, é diagnosticada em média de 7,1 semanas após o estro e apresenta maior incidência em nulíparas (Niskanen; Thrusfield, 1998; Fukuda, 2001; revisto por Mateus & Eilts, 2010). Num estudo, sobre a incidência de piómetra em cadelas beagle criadas numa colónia verificou-se que esta doença manifestava-se na maioria dos casos mais tarde em múltíparas, em média 5-10 anos após o último parto (Fukuda, 2001).

Figura 1- Útero de cadela com piómetra.



Legenda: Ovariohisterectomia de uma cadela com 7 anos de idade, de raça indeterminada, que apresentava piómetra fechada.

O uso de hormonas exógenas para supressão ou indução do estro e para o tratamento abortivo, assim como, alterações anatómicas na vagina e no vestíbulo, como estreitamentos e septos, predispõem para o aparecimento da piómetra em cadelas jovens (Pretzer, 2008). A pseudogestação não é um fator predisponente (ALLEN, 1986).

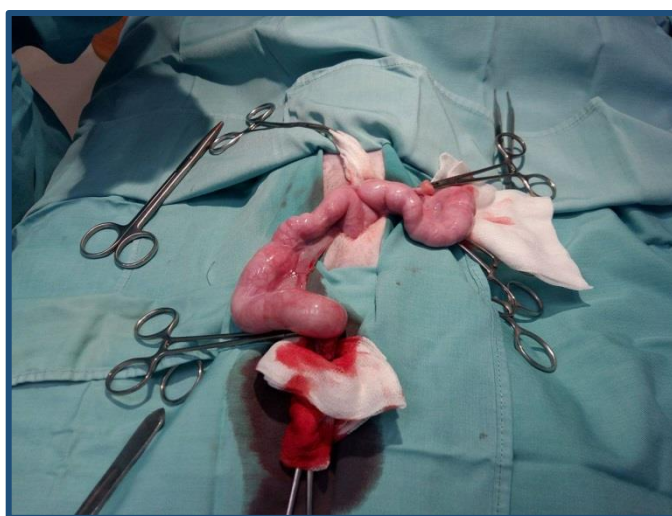
Embora controverso, as raças mais predispostas ao aparecimento da piómetra são: Rottweiler, São Bernardo, Cavalier King Charles, Golden Retriever, Leonberger, Schnauzer miniatura, Irish Terrier, Airedale Terrier, Rough Collie, Cocker Spaniel e Bouvier Bernois. Enquanto que os animais sem raça definida, os Drovers, os Pastores Alemães, os

Dachshunds miniatura e standart e os Swedish Hounds parecem apresentar menor incidência desta entidade (Niskanen & Thrusfield, 1997; Egenvall et al., 2001).

A incidência de piómetra nas gatas é considerada menor que nas cadelas: por terem ovulações induzidas, ou seja, o útero das gatas é exposto com menor frequência à ação da progesterona; por não apresentarem manifestação clínica na mesma proporção que as cadelas e por serem esterilizadas (Ovariohisterectomia, OVH) ainda jovens para evitar gestações indesejadas e comportamentos de cio. A ovulação espontânea também está presente nas gatas e apesar da causa ser desconhecida, pressupõe-se que seja influenciada pela raça, pelo aumento da idade e número de partos, podendo ocorrer em 87% das gatas (Gudermuth, Newton, Daels & Concannon, 1997; Hollinshead & Krekeler, 2016). A repetição de ovulações espontâneas, assim como, a administração de hormonas exógenas predispõem para o aparecimento de piómetra (Keskin, et al., 2009; Hagman et al., 2014).

Nas gatas, a piómetra (figura 2) ocorre com maior frequência entre os 5 e os 7 anos de idade e os sinais clínicos são detetados, normalmente, 4 semanas após a ovulação. Esta infeção uterina pode coexistir com outras alterações, nomeadamente: neoplasias no útero, alterações anatómicas do trato reprodutivo e torções uterinas (Hollinshead & Krekeler, 2016; Pires et al., 2016).

Figura 2- Útero de gata com piómetra.



Legenda: Ovariohisterectomia de gata de raça indeterminada, com 9 meses de idade, que apresentava uma piómetra aberta.

Num estudo sobre a incidência de piómetra em gatas na Suécia (Hagman et al., 2014) verificou-se uma maior predisposição no desenvolvimento da doença em gatos de raça Oriental. Estas raças ciclam durante todo o ano, apresentam intervalos interéstricos menores e maior incidência de ovulação espontânea em relação às outras raças. Estes fatores fazem com que o útero destes animais esteja mais exposto à ação do estrogénio e da progesterona, o que aumenta a probabilidade de aparecimento da piómetra. As raças com maior

predisposição são: Sphynx, Gato Siberiano, Ocicat, Korat, Siamês, Ragdoll, Maine Coon e Bengal (Hollinshead & Krekeler, 2016).

Contudo, existem determinados fatores que parecem não influenciar a incidência de piômetra na gata, como: a idade do primeiro cruzamento e do primeiro parto e o número de partos. (Agudelo, 2005; Pires et al., 2016).

1.1.2 Etiologia

A piômetra é uma doença de origem multifatorial, que depende de uma componente bacteriana associada a uma componente hormonal. Apesar da origem desta infecção uterina ser similar nas duas espécies, o mecanismo exato que leva ao seu desenvolvimento não está completamente esclarecido, principalmente na gata devido às particularidades do seu ciclo éstrico (Hagman, Lagerstedt, Hedhammar, & Egenvall, 2011; Hollinshead & Krekeler, 2016).

Durante a fase lútea, a progesterona (P4) torna-se dominante, influenciando diversas alterações destinadas a assegurar a sobrevivência de um possível embrião, independentemente da existência ou não de uma gestação. Estas funções incluem: aumento da proliferação das células glandulares e das células do estroma do endométrio, desenvolvimento das glândulas endometriais, diminuição da contração do miométrio, encerramento do cérvix e diminuição da imunidade local. Esta diminuição da imunidade dá-se pela inibição de produção de citocinas responsáveis pelo fluxo de neutrófilos e monócitos para o útero (Sugiura et al., 2004; Pretzer, 2008; Pires et al., 2016). Ao contrário da progesterona, o estrogénio (E2) é responsável pelo crescimento, vascularização e edema do endométrio, pela migração de polimorfonucleares neutrófilos (PMN's) para o útero, pela abertura do cérvix e pelo aumento da expressão de lactoferrina que tem ação bactericida, especialmente para *Escherichia coli* (M. Niskanen; M.V.Thrusfield, 1998; Kida et al., 2006). Não foram verificadas quaisquer alterações patológicas no endométrio quando este é exposto isoladamente à ação estrogénica (Johnston; Kustritz & Olson, 2001).

Em 2004, Ververidis e colaboradores compararam as concentrações de E2 e P4 com as concentrações dos respetivos recetores, em cadelas com HQE-P e em cadelas saudáveis na mesma fase do ciclo éstrico. As cadelas doentes em comparação às cadelas saudáveis mostraram: concentrações plasmáticas similares de P4, maiores concentrações plasmáticas de E2, menor expressão dos recetores de progesterona ao longo do diestro e menor expressão dos recetores de estrogénio na primeira metade do diestro e início do anestro. Deste modo, nas fêmeas com HQE-P, parece haver um aumento da sensibilidade do útero à ação da P4. O papel complementar do E2 no início do anestro também foi mencionado, visto que a redução da P4 permite o restabelecimento e a ativação dos RE devido a níveis relativamente elevados de E2.

Como já foi referido, a HQE e a piómetra são consideradas duas entidades distintas, contudo, não se pode excluir que a HQE leve ao desenvolvimento da piómetra (De Bosschere *et al.*, 2001). A HQE espontânea resulta de uma resposta anormal do útero à ação da progesterona durante a fase lútea, ao longo de vários ciclos éstricos. Esta resposta do útero à progesterona é aumentada pela ação prévia do estrogénio, dada a sua capacidade de aumentar o número de recetores da progesterona a nível do endométrio (Johnston *et al.*, 2001).

Esta estimulação exagerada da atividade secretora das glândulas endometriais, pode levar à rutura dos quistos existentes e acumulação de muco no lúmen uterino. Este muco rico em mucopolissacarídeos associado à supressão da imunidade local predispõem à proliferação de bactérias comensais da vagina que ascenderam ao útero quando o cérvix se encontrava patente, conduzindo ao aparecimento da piómetra (Carreira, 2005; Pires *et al.*, 2016). A presença de bactérias durante o estro também parece estar associada ao desenvolvimento de HQE. A estimulação causada pela contaminação uterina parece induzir a proliferação endometrial antes da instalação do HQE-P (Mateus *et al.*, 2013).

Tanto a HQE como a piómetra podem ser induzidas pela administração de hormonas exógenas, especialmente quando a administração de P4 (medroxiprogesterona e acetato de megestrol) é feita após a sensibilização do endométrio por estrogénios, simulando o ciclo éstrico (Revisto por Mateus & Eilts, 2010). Embora o estudo de Niskanen & Thrusfield (1998) não tenha encontrado um aumento da incidência de piómetras com o tratamento de progestagénios, outros estudos referem que o risco destes tratamentos está associado às diferenças entre doses e duração dos mesmos, dado que uma administração prolongada de P4 leva a uma falha na regulação negativa dos RE e RP (De Bosschere, *et al.*, 2002). O uso de benzoato de estradiol no tratamento abortivo, em diferentes doses, também tem sido associado a um aumento de desenvolvimento de piómetra, possivelmente devido a uma regulação positiva dos RP no endométrio (Whitehead, 2008; Revisto por Mateus & Eilts, 2010).

A componente bacteriana tem imensa importância no desenvolvimento da piómetra. Quanto maior o número de bactérias presentes na vagina durante o estro e o pro-estro, maior a possibilidade destas entrarem no útero e desencadearem a infeção, uma vez que, a diminuição da imunidade a nível do endométrio (com o aumento de P4), associada ou não, a alterações quísticas no mesmo, tornam o útero num local ideal para o crescimento bacteriano e posterior desenvolvimento de piómetra. A presença de fluido sanguinolento também predispõe para o desenvolvimento bacteriano uma vez que funciona como meio de cultura para as bactérias. A bactéria mais comumente isolada em casos de piómetra de cadela e gata é *Escherichia coli*. Contudo existem outras bactérias, capazes de desenvolverem piómetra, presentes habitualmente na flora vaginal, como: *Streptococcus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pasteurella spp.*, *Proteus spp.*, e *Pseudomonas spp.* (Watts, Wright,

& Whithear, 1996; Revisto por Mateus & Eilts, 2010). Em 2007, Dahlgren, Gjerde, & Pettersen relataram pela primeira vez uma piómetra de gata causada por *Tritrichomonas foetus*.

Os resultados de um estudo feito em cadelas com piómetra (Hagman & Kühn, 2002), mostrou que os isolados de *E. coli* de cada animal tinha um perfil único de ADN, o que torna evidente que as estirpes isoladas de cada animal tiveram origem na própria flora e não de clones disseminados entre animais; neste estudo também se verificou que nos casos em que a infecção do trato urinário era simultânea à piómetra, *E. coli* isolada pertencia ao mesmo clone.

Existem certos serotipos de *E. coli* que são comumente associados ao desenvolvimento de piómetra, uma vez que são mais propensos a invadir o útero e a resistir aos mecanismos de defesa do animal (Hagman & Kühn, 2002).

As endotoxinas são libertadas para a circulação durante o crescimento e morte das bactérias Gram-negativas e quando em concentrações elevadas estão associadas a um mau prognóstico. Estas têm a capacidade de estimular fortemente a síntese de prostaglandinas, especialmente a prostaglandina E2 (PGE2) que contribui para a supressão da imunidade durante o diestro. O aumento da prostaglandina F2 α (PGF2 α), também é devido à estimulação por parte destas endotoxinas, e a medição do seu metabolito (PGFM) é considerado um bom indicador dos níveis de endotoxina no sangue em cadelas com piómetra, permitindo diferenciar esta infecção uterina de HQE (R. Hagman *et al.*, 2006; Silva, Leitão, Ferreira-Dias, Lopes Da Costa, & Mateus, 2009; Jitpean *et al.*, 2016).

A piómetra pode levar ao síndrome de resposta inflamatória sistémica (SRIS). A produção de mediadores de inflamação, como, factor de necrose tumoral (TNF), interleucinas (IL-1 e IL-6) e o fator de ativação de plaquetas podem levar a alterações em diversos órgãos, ou mesmo à morte do animal (revisto por Mateus & Eilts, 2010) .

1.1.3 Sinais clínicos

A frequência e a intensidade dos sinais clínicos na piómetra dependem principalmente se a piómetra é aberta ou fechada e do tipo de bactéria presente. Em piómetras causadas por bactérias Gram-negativas os sinais clínicos estão maioritariamente associados à endotoxémia, uma vez que estas bactérias são responsáveis por libertar endotoxinas após o seu rápido crescimento e posterior desintegração induzindo a libertação de mediadores de inflamação. Logo estes animais devem ser intervencionados o mais rapidamente possível devido ao choque ou à falência multi-orgânica causada pela SRIS (R. Hagman *et al.*, 2006). Em situações de piómetra fechada também se observa uma apresentação mais marcada dos sinais clínicos e conseqüentemente um agravamento do prognóstico, uma vez que o conteúdo purulento juntamente com os produtos das bactérias permanecem no lúmen uterino, em comparação à piómetra aberta em que o conteúdo é continuamente drenado para o exterior. A piómetra aberta é diagnosticada em 58% a 98% das cadelas e em 59% das gatas e as

características do corrimento podem variar consoante a bactéria em causa. O corrimento pode ser mucopurulento, purulento, sanguino-purulento, de branco a avermelhado e com cheiro fétido. O corrimento vulvar, pode ser o primeiro ou mesmo o único sinal clínico em animais com piómetra aberta, embora, em algumas situações, o corrimento possa não ser observado pelos tutores, por estar presente em pequenas quantidades e pela higiene frequente da zona vulvar pelo próprio animal. As cadelas e as gatas com piómetra fechada apresentam com maior frequência distensão abdominal, pelo que a palpação abdominal deverá ser feita com cuidado para evitar uma rutura uterina iatrogénica e consequentemente uma peritonite (Agudelo, 2005; Verstegen *et al.*, 2008; Revisto por Mateus & Eilts, 2010; Jitpean *et al.*, 2017).

Os sinais clínicos podem manifestar-se gradualmente ou de forma aguda e os mais comuns são (tabela 2): letargia e anorexia, poliúria (PU) e polidipsia (PD), dor abdominal, vômitos, diarreia e desidratação. Os sinais associados à SRIS são: a hiper ou hipotermia, a alteração da cor das mucosas e a frequência cardíaca (FC) e respiratória (FR) elevadas (Revisto por Mateus & Eilts, 2010). A SRIS é observada em 80% das cadelas e em 86% das gatas com piómetra (Pelander, Hagman, & Häggström, 2008; Hagman, Karlstam, Persson, & Kindahl, 2009).

Tabela 2- Prevalência dos sinais clínicos mais comuns na piómetra na cadela e na gata (Adaptado de Mateus & Eilts, 2010).

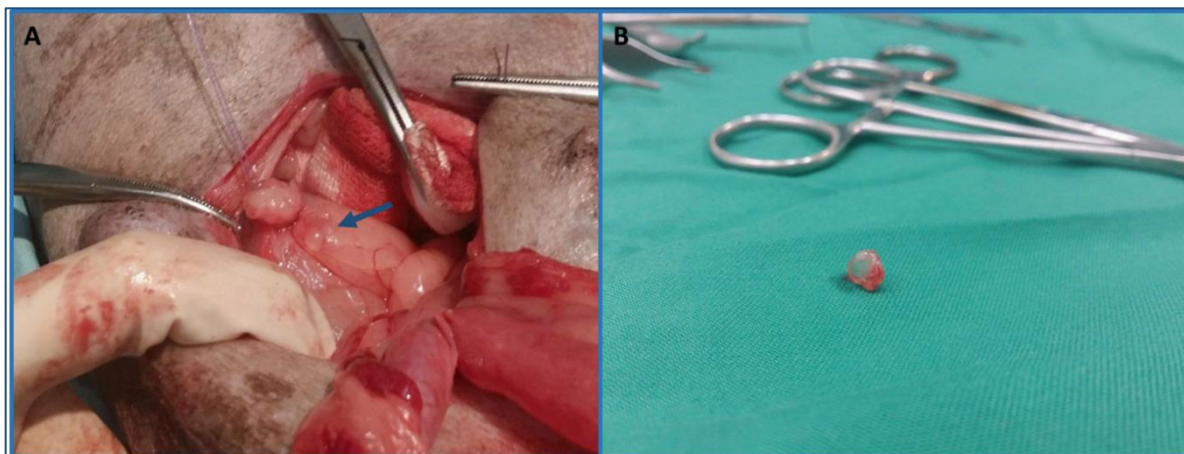
| | Cadela | Gata |
|---|---------------|-------------|
| Letargia e anorexia | 56-100% | 32- 40% |
| Poliúria e polidipsia | 5- 65% | 9% |
| Dor abdominal, vômitos ou diarreia | 27- 66% | 16% |
| Desidratação | 15- 28% | 33% |

Alguns autores têm relatado casos de animais com piómetra com sintomas invulgares, como por exemplo: a presença de uveíte como único sinal clínico numa cadela (Verstegen *et al.*, 2008); uma dermatopatia generalizada (edema e eritema) possivelmente devido a um síndrome de choque séptico numa cadela com uma piómetra fechada (Declercq, 2007); e um caso de pericardite séptica numa gata, causada provavelmente pela disseminação por via hematogénica das bactérias presentes na infeção uterina (Majoy, Sharp, Dickinson, & Cunningham, 2013).

Dada a inespecificidade dos sinais clínicos que habitualmente se observam na piómetra, qualquer cadela ou gata intacta que os exiba, deve ser observada de forma cuidada de modo a eliminar a presença desta infeção (Verstegen *et al.*, 2008 ;Hollinshead & Krekeler, 2016). No entanto, animais ovariectomizados ou que apresentam síndrome remanescente

ovário (figura 3) também podem desenvolver piómetra de coto uterino (Revisto por Mateus & Eilts, 2010).

Figura 3- Síndrome remanescente ovário numa cadela.



Legenda: Observação do síndrome remanescente ovário no momento da OVH, numa cadela com 4 anos, de raça Yorkshire. **A-** Remoção cirúrgica do tecido remanescente ovário; **B-** Tecido remanescente ovário.

1.1.4. Diagnóstico

O diagnóstico é feito com base na história e sinais clínicos apresentados pelos animais, associado a exames complementares que apresentarão alterações consoante a gravidade da infeção (Johnston *et al.*, 2001; Hollinshead & Krekeler, 2016).

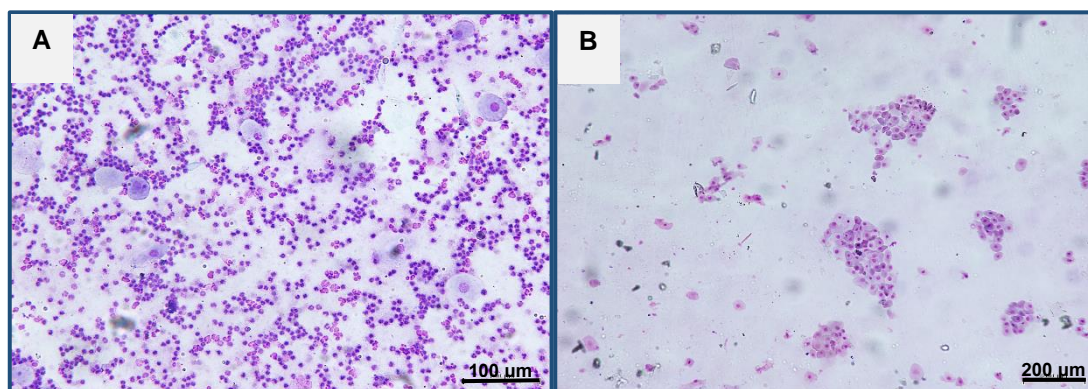
Exame físico

As cadelas e as gatas suspeitas devem ser submetidas a um exame físico detalhado, principalmente da região vulvar e vaginal para se avaliar a existência de corrimento. Ao longo deste exame também se deve recorrer à palpação abdominal para avaliar a dimensão do útero, sempre de forma cuidada devido à friabilidade e distensão que este possa apresentar na piómetra fechada. A palpação em animais obesos, tensos ou com dor abdominal, torna este procedimento difícil (Johnston, *et al.*, 2001; Hollinshead, 2015). Ao exame físico também é possível detetar outros sinais clínicos, como a desidratação, a hipertermia, ou mesmo hipotermia em situações de endotoxémia (Johnston *et al.*, 2001).

Citologia vaginal

Nas piómetras abertas, a citologia permite observar um número abundante de bactérias fagocitadas e de neutrófilos degenerados (Feldman, Edward; Nelson, 2004; Hollinshead & Krekeler, 2016) (figura 4). No caso da presença de quistos foliculares ou tumores secretores no ovário, a citologia poderá indicar a influencia estrogénica no epitélio vaginal durante o diestro.

Figura 4- Citologia vaginal de piómetra em cadela.



Legenda: A- piómetra aberta; B-piómetra fechada (citologia típica de diestro).

Na piómetra observam-se frequentemente alterações no hemograma e no perfil bioquímico sérico dos animais. No entanto, estas alterações parecem não ser tão marcadas nas gatas (Revisto por Mateus & Eilts, 2010; Hollinshead & Krekeler, 2016).

Hemograma

Os animais afetados apresentam um grau variável de leucocitose, com manifestação mais intensa em piómetras fechadas; neutrofilia com desvio à esquerda (em 70% a 87% das cadelas e 66% das gatas); degeneração tóxica dos neutrófilos, em que o grau de toxicidade está correlacionado com a gravidade da doença; e monocitose. A linfopénia está presente em 8% a 35% das cadelas e em 4% das gatas e a existência de neutropénia está associada a casos de endotoxémia. Os animais afetados podem apresentar hemogramas sem alterações e cerca de 25% das cadelas e 28% das gatas não apresentam alterações no leucograma. (Johnston, *et al.*, 2001; Verstegen *et al.*, 2008; Revisto por Mateus & Eilts, 2010; Hollinshead & Krekeler, 2016).

A cronicidade desta infeção uterina é refletida na presença de uma anemia normocítica e normocrómica não regenerativa, muitas vezes mal avaliada pela desidratação concomitante. Esta alteração é causada pela diminuição da eritropoiese (efeitos tóxicos sobre a medula óssea), pela deficiência em ferro e perda de eritrócitos para o lúmen uterino. As cadelas doentes, raramente apresentam trombocitopenia, contudo quando presente pode ser uma componente da coagulação intravascular disseminada. (Agudelo, 2005; Verstegen *et al.*, 2008; Revisto por Mateus & Eilts, 2010).

Análises bioquímicas

A alteração bioquímica mais consistente na piómetra é o aumento da fosfatase alcalina em 50% a 75% dos casos, que pode ser concomitante a uma diminuição da alanina aminotransferase (ALT) e a um aumento do aspartato aminotransferase (AST). Estas

alterações refletem lesões hepatocelulares causadas pela endotoxemia, como a inibição da síntese de enzimas hepáticas ou a destruição das membranas dos hepatócitos (Kaymaz, Baştan, Erüenal, Aslan, & Findik, 1999; Verstegen et al., 2008; Revisto por Mateus & Eilts, 2010). Ao contrário do que se verifica na ALT e AST, o aumento da fosfatase alcalina, assim como da bilirrubina e do colesterol sérico resultam da colestase intra-hepática e não de lesões a nível dos hepatócitos (Revisto por Mateus & Eilts, 2010).

A alteração ao nível renal é uma das complicações mais comuns desta doença. A azotemia causada pela desidratação e possível disfunção renal está presente em 18% a 26% das cadelas e em 12% das gatas com piómetra e está associada a sinais clínicos mais graves e consequentemente a uma correlação negativa com a taxa de sucesso na recuperação do animal. A azotemia pré-renal verificada na piómetra é revertida pela fluidoterapia e pela cirurgia. Mesmo na ausência de azotemia, a taxa de filtração glomerular encontra-se diminuída em 75% das cadelas com piómetra (Verstegen et al., 2008; Revisto por Mateus & Eilts, 2010; Hollinshead & Krekeler, 2016).

Na piómetra pode ainda detetar-se hipoalbuminemia associada a hiperproteinemia. Os níveis de albumina estão igualmente correlacionados com as concentrações de endotoxinas, pelo que a hipoalbuminemia está associada à septicemia. Esta diminuição pode ser causada por uma diminuição na sua absorção (anorexia) e/ou síntese (disfunção hepática), a uma perda pela urina (doença glomerular) ou por uma acumulação no tecido extravascular (por aumento da permeabilidade capilar ou expansão do tecido extravascular). A hiperproteinemia pode estar presente devido à desidratação e à estimulação crónica do antigénio presente nesta infeção uterina, que leva à produção de gamaglobulinas e de proteínas de fase aguda positiva (Kaymaz, *et al.*, 1999; Johnston *et al.*, 2001; Agudelo, 2005; Verstegen, *et al.*, Hagman et al., 2009; Revisto por Mateus & Eilts, 2010). Proteínas de fase aguda, como a proteína C reativa e o soro Amiloide podem ser utilizadas como marcadores de diagnóstico pós operatório em cadelas com piómetra, dado que estas refletem a ativação do sistema imunológico e podem ser utilizadas para avaliar a gravidade de inflamação (Dabrowski, Wawron, & Kostro, 2007).

A hiperglobulinemia está presente em 30% a 60% das gatas e 27% das cadelas, é mais evidente em piómetras fechadas e a sua presença pode ser refletida no aumento de velocidade de sedimentação dos eritrócitos (Johnston, *et al.*, 2001; Agudelo, 2005).

Situações de septicemia e choque, podem levar à hipoglicemia devido ao aumento do consumo de glicose, ao esgotamento das reservas de glicogénio e à diminuição da gliconeogénese (Agudelo, 2005).

Urianálise

A nível da urianálise podem observar-se diversas alterações devido a doença renal secundária instalada. A proteinúria é uma das alterações verificadas, manifesta-se de forma independente da presença de azotémia e os seus resultados podem estar aumentados em amostras de urina por colheita livre, devido à contaminação com corrimento vulvar. Contudo a realização da cistocentese não é recomendada nestes animais, devido ao alto risco de perfuração do útero que se encontra distendido. Na urianálise também é possível detetar diferenças na densidade urinária devido à desidratação e poliúria presente. Geralmente, esta poliúria é reversível após ovariectomia e é provavelmente resultado dos efeitos da endotoxina (Agudelo, 2005; Revisto por Mateus & Eilts, 2010). Apesar de ser raro, algumas cadelas doentes e com valores anormalmente elevados de proteinúria desenvolvem insuficiência renal fulminante, o que revela a importância do seguimento pós-cirúrgico da proteinúria em animais com piómetra. (Heiene, Moe, & Mølmen, 2001; Heiene, Kristiansen, Teige, & Jansen, 2007; Revisto por Mateus & Eilts, 2010).

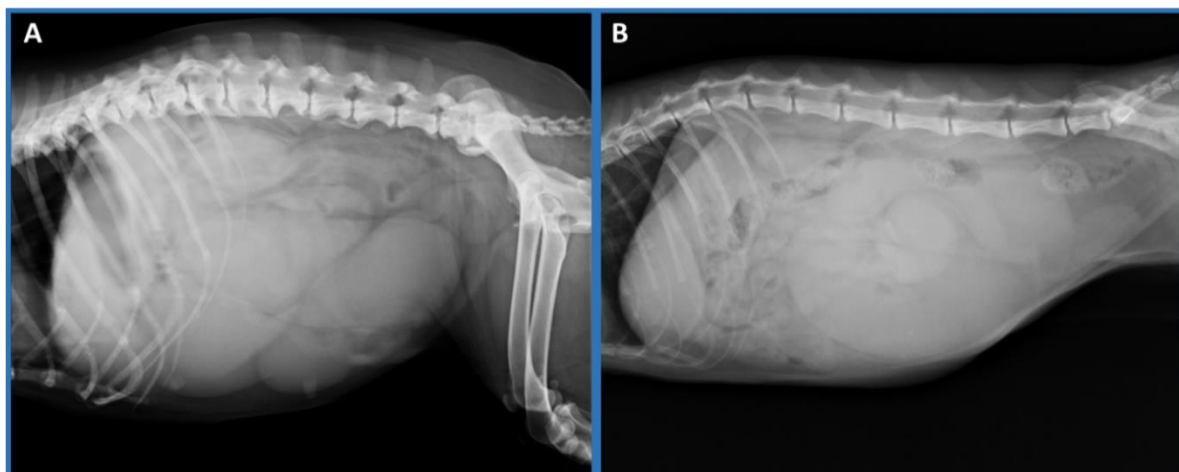
A poliúria e polidipsia compensatória presentes na piómetra podem ser consequência de diversos fatores, como: a diminuição da capacidade de reabsorção de cloro e sódio pela ansa de Henle, a presença de alterações nas células dos túbulos renais ou pelo aumento da insensibilidade dos túbulos renais à hormona antidiurética (ADH) (Revisto por Mateus & Eilts, 2010). Ou seja, a diminuição da capacidade de concentrar urina não está associada a uma diminuição de secreção de ADH, mas sim a uma alteração na função dos seus recetores ou na formação das aquaporinas nas células dos túbulos renais (Heiene et al., 2004). Nas cadelas com piómetra também é possível observar inflamação dos túbulos intersticiais. No entanto, alterações ao nível glomerular parecem estar relacionadas com a idade avançada que as cadelas apresentam (Heiene, *et al.*, 2007).

Radiografia

Na radiografia (RX), em projeção latero-lateral, o útero é observado como um órgão tubular distendido, cheio de fluído, localizado entre o cólon descendente e a bexiga, que consoante o grau de distensão pode levar ao deslocamento das ansas intestinais para a região crânio-dorsal (figura 5) (Revisto por Mateus & Eilts, 2010; Hollinshead & Krekeler, 2016).

Este exame pode não permitir a distinção entre a piómetra e uma gestação com menos de 42 a 45 dias após o estro, em que ainda não se verifica calcificação do esqueleto fetal. Outras situações que causem distensão uterina, como mucómetra, hidrómetra, hemómetra ou leiomioma também tornam complicada esta diferenciação. Desta forma os achados radiológicos devem ser associados aos sinais clínicos e às alterações hematológicas presentes (Hollinshead & Krekeler, 2016).

Figura 5- Radiografia de piómetra de cadela e gata.

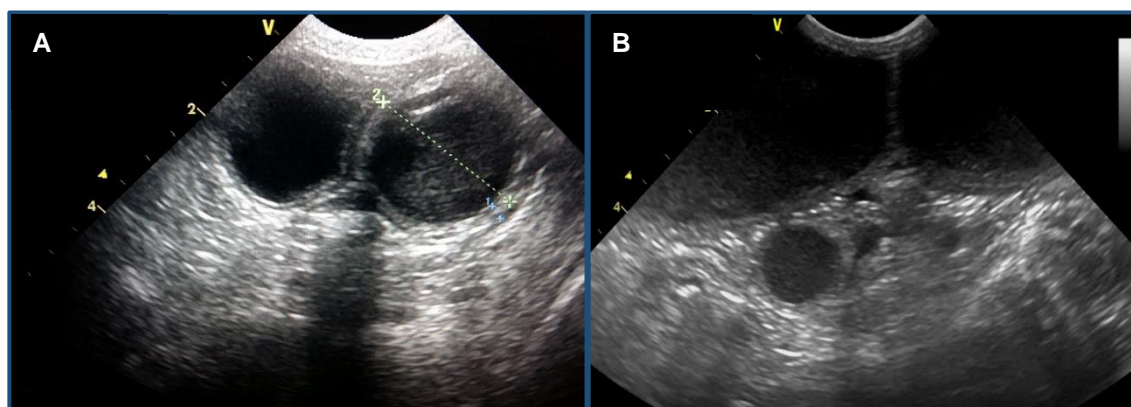


Legenda: (A) Projeção Latero-lateral de uma cadela com 8 anos, de raça indeterminada com piómetra fechada; (B) Projeção latero-lateral de uma gata com 5 anos, de raça indeterminada com piómetra fechada. Imagens cedidas pelo Departamento de Imagiologia da FMV-UL.

Ecografia

A ecografia é o exame complementar mais importante para o diagnóstico de piómetra (figura 6). Com este exame é possível determinar a espessura e a integridade da parede uterina e as características do fluido intrauterino, de forma a diferenciar gestação, HQE, piómetra e mucómetra (Revisto por Mateus & Eilts, 2010). Na piómetra os cornos uterinos encontram-se distendidos com aspeto tortuoso e cheios de conteúdo de ecogenicidade mista e possível floculação. A parede uterina encontra-se fina ou espessada, com bordos irregulares sendo possível observar pequenas áreas hipoeecogénicas consistentes com alterações quísticas das glândulas endometriais (Verstegen et al., 2008; revisto por Mateus & Eilts, 2010; Hollinshead & Krekeler, 2016).

Figura 6- Imagem ecográfica de piómetra em cadela e gata



Legenda: A- Piómetra hiperplásica numa cadela com 14 anos; B- Piómetra atrófica numa gata com 8 meses.

1.1.5 Tratamento

A piómetra pode ser tratada cirúrgica ou medicamente e, em alguns casos, a combinação das duas abordagens pode ser a solução mais segura e eficaz (Hollinshead & Krekeler, 2016).

Tratamento cirúrgico

A ovariectomia (OVH) é o tratamento de escolha independentemente do cérvix estar ou não patente (Johnston, *et al.*, 2001). A OVH é indicada em cadelas e gatas sem valor reprodutivo ou não destinadas à reprodução, em emergências como ruturas ou torções (na gata) uterinas, em animais de idade avançada, com piómetras hiperplásicas ou atróficas, em piómetras refratárias ao tratamento médico, em piómetras fechadas e em animais com alterações sistémicas (Revisto por Mateus & Eilts, 2010; Hollinshead & Krekeler, 2016). Quando se opta pelo tratamento cirúrgico deve-se ter em consideração o estado geral e a estabilização do animal através de fluidoterapia e de administração de antibióticos de largo espectro via endovenosa até que o risco anestésico seja o mínimo possível. Durante a cirurgia, o manuseamento do útero deve ser feito de forma cuidada dada a distensão e friabilidade que este apresenta e recomenda-se a colocação de compressas no abdómen de forma a evitar a contaminação desta cavidade com conteúdo purulento (Hollinshead & Krekeler, 2016).

Após a cirurgia, os animais devem ser monitorizados durante 24 a 48 horas de forma a controlar quaisquer sinais de choque, desidratação, septicémia, desequilíbrios ácido-base e eletrolíticos, hipoproteinémia, hipoglicémia e anemia (Hollinshead & Krekeler, 2016). A morbilidade associada à OVH na piómetra é de 4% a 20% e para além da anorexia pós operatória em gatos, a septicémia parece ser a sua principal causa. A mortalidade é de 5% a 8% e pode ser resultado da septicémia ou peritonite secundária à rutura uterina, concomitante com doença hepática ou renal (Egenvall *et al.*, 2001; revisto por Mateus & Eilts, 2010).

A administração de antibióticos deve ser feita tanto no tratamento médico como no cirúrgico e o seu uso exclusivo não é eficaz no tratamento da piómetra, a não ser que o diâmetro do útero não esteja alterado (Johnston, *et al.*, 2001; revisto por Mateus & Eilts, 2010). A escolha do antibiótico deve ser feita com base na identificação do agente e no teste de sensibilidade a antibióticos (TSA) a partir do corrimento vulvar antes da OVH ou a partir do conteúdo uterino no momento da cirurgia. No entanto, a antibioterapia deve ser iniciada de forma empírica no momento do diagnóstico tendo sempre em conta a bactéria mais prevalente na piómetra, que é *E. coli*. Os antibióticos idealmente utilizados são as fluoroquinolonas (enrofloxacina, marbofloxacina) associadas à amoxicilina e ácido clavulânico ou à ampicilina. A utilização das fluoroquinolonas deve-se ao facto destas atingirem concentrações mais altas no útero que no plasma. No caso de sépsis o metronidazol justifica-se pela translocação da flora intestinal para o abdómen. Existem outros antibióticos que atuam sobre *E. coli*, que também podem ser

utilizados, como por exemplo: Aminoglicosídeos, sulfametoxazol e trimetoprim e cefalosporinas de terceira geração (Wiebe & Howard, 2009). A antibioterapia deve ser mantida durante duas semanas após a OVH ou até ao desaparecimento do corrimento vulvar no tratamento médico (Revisto por Mateus & Eilts, 2010). No caso do tratamento médico, se a administração antibióticos for por via oral, deve ser feita num momento diferente da administração das prostaglandinas, uma vez que estas provocam o vômito (Hollinshead & Krekeler, 2016).

Embora a resistência aos antibióticos não seja a causa mais provável de recorrência de piómetra após o tratamento médico, a infeção bacteriana pode ser difícil de eliminar na totalidade (Hagman & Greko, 2005). A incapacidade dos antibióticos de se difundirem no fluido intrauterino e a possível formação de biofilme também pode impedir que os agentes antibacterianos adiram às bactérias (Revisto por Mateus & Eilts, 2010).

Tratamento médico

O tratamento médico é geralmente reservado a fêmeas jovens (com idades iguais ou inferiores a 6 anos em cadelas e 8 anos em gatas), com o cérvix patente, que não mostrem sinais de doença sistémica e que tenham interesse reprodutivo. O tratamento médico em cadelas com piómetra fechada não é recomendado, especialmente quando a prostaglandina é usada num tratamento único, visto que pode resultar numa peritonite pela rutura do útero, saindo o conteúdo uterino através de uma zona friável da parede uterina ou pelo oviduto (Revisto por Mateus & Eilts, 2010). Apesar dos animais permanecerem em casa durante o período de tratamento, todos os animais que recebem tratamento médico devem ser cuidadosamente monitorizados e de forma sistemática no hospital no dia em que o tratamento é feito. Caso os animais necessitem de fluidoterapia devem ser imediatamente hospitalizados. Os tutores destes animais devem ser informados do risco de falha do tratamento e que, em último caso, a cirurgia poderá ser necessária. Os fármacos recomendados para o tratamento médico são: a prostaglandina F2 α (PGF2 α), os agonistas da dopamina e os antagonistas dos recetores de progesterona (Hollinshead & Krekeler, 2016).

A PGF2 α é um agente ecbólico que induz a luteólise, as contrações do miométrio e a abertura funcional do cérvix após luteólise, o que permite a drenagem do conteúdo uterino. Antes do início do tratamento e no final do mesmo, devem ser feitos doseamentos de progesterona para o ajustamento da dose e duração do procedimento (Smith, 2006; revisto por Mateus & Eilts, 2010).

A PGF2 α está associada a diversos efeitos secundários como dor, hipersalivação, dispneia, vômito, defecação, micção, taquicardia, dor abdominal e as gatas podem apresentar “grooming” de forma excessiva e agitação. Estes sinais, geralmente, aparecem entre 5 a 15 minutos após a administração e duram entre 30 a 60 minutos. Contudo podem ser

minimizados, começando com protocolos de doses baixas e aumentando lentamente a dose consoante a tolerância de cada animal. Os efeitos secundários causados pelas prostaglandinas são dose dependente pelo que raramente são observados nestes protocolos e à medida que o tratamento progride a tolerância à administração deste fármaco aumenta, reduzindo assim, a observação de quaisquer efeitos. A administração concomitante de atropina, assim como o jejum pré-tratamento e passeios de 20 a 40 minutos após a administração podem ajudar na diminuição dos efeitos causados pela PGF_{2α}. (Davidson, Feldman, Nelson, 1992 ; revisto por Mateus & Eilts, 2010; Johnston, *et al.*, 2001; Hollinshead & Krekeler, 2016). Em animais que apresentem alterações nas vias aéreas, que estejam gestantes, com septicémia, peritonite ou outro tipo de doença está contraindicado o uso deste fármaco (Revisto por Mateus & Eilts, 2010).

A prostaglandina pode apresentar-se sob duas formas: a natural, dinoprost trometamina, ou a sintética, como por exemplo, o cloprostenol. Embora o Cloprostenol esteja associado a menos efeitos secundários e sejam necessários menos tratamentos por apresentar uma semi-vida maior, o uso da PGF_{2α} natural é preferível porque induz contrações miométriais mais fortes, o que torna mais rápido o processo de eliminação do conteúdo uterino (Verstegen *et al.*, 2008; Hollinshead & Krekeler, 2016). As doses utilizadas de Dinoprost trometamina para o tratamento de piómetra aberta na cadela e na gata variam entre 0,1 a 0,25 mg/kg e devem ser administrada por via subcutânea (SC) uma a duas vezes por dia. Durante este período o corrimento aumenta nas primeiras 24 a 48 horas, torna-se menos purulento e mais mucóide ou hemorrágico, acabando por desaparecer na totalidade no fim do tratamento, o que normalmente dura cerca de 3 a 5 dias. Consoante a tolerância do animal as doses podem ser ajustadas nas primeiras 48 a 72 horas de forma a minimizar os efeitos secundários (Agudelo, 2005; revisto por Mateus & Eilts, 2010).

Caso o corrimento permaneça e o animal se encontre estável clinicamente é possível prolongar o tratamento por mais 5 dias. No entanto, os animais que necessitem de mais de 5 dias de tratamento ou de tratamento repetido apresentam pior prognóstico e maior dificuldade na recuperação da fertilidade (Agudelo, 2005; revisto por Mateus & Eilts, 2010). De forma a diminuir os efeitos secundários associados às prostaglandinas, foram publicados diversos protocolos com doses mais baixas (10-50µg/kg) e maior frequência de administração (ARNOLD *et al.*, 1988; Verstegen *et al.*, 2008; revisto por Mateus & Eilts, 2010; Hollinshead & Krekeler, 2016). Por exemplo:

- 1º dia- 10-15 µg/kg SC 3 a 5 vezes;
- 2º dia- 25 µg/kg SC 3 a 5 vezes (manter esta dose no 3º dia, caso haja baixa tolerância à PGF_{2α});
- 3º dia- 50 µg/kg SC 3 a 5 vezes (até ao fim do tratamento).

(Verstegen et al., 2008; Hollinshead, 2015; Hollinshead & Krekeler, 2016).

O tratamento conservativo com prostaglandinas resulta em 83% a 100% das cadelas com metrites ou com piômetras abertas com o cérvix ligeiramente dilatado (Nelson & Feldman, 1982; revisto por Mateus & Eilts, 2010).

Em gatas com piômetra fechada o uso da prostoglandina natural em doses baixas diminui o efeito ecbólico da prostaglandina; o risco de rutura do útero e dos seus efeitos secundários. Consoante a tolerância do animal, as doses de PGF2 α podem ser aumentadas após a luteólise e a abertura do cérvix (Hollinshead & Krekeler, 2016).

As prostaglandinas não são tão eficazes a provocar luteólise da gata como na cadela, uma vez que o corpo lúteo da gata é mais resistente; desta forma, é recomendado o uso de doses mais elevadas, dentro do intervalo estabelecido nesta espécie (Hollinshead & Krekeler, 2016; revisto por Mateus & Eilts, 2010).

A dose de Cloprostenol é normalmente inferior a 2,5 μ g/kg, pelo que é recomendado um cuidado acrescido na sua manipulação, uma vez que o uso das doses similares às usadas no protocolo com prostaglandina natural pode ser fatal (Revisto por Mateus & Eilts, 2010).

Ao fim de 24 a 48 horas de tratamento apenas com prostaglandina, ou em combinação com agonistas da dopamina ou antagonistas dos recetores de progesterona a condição física das cadelas aumenta substancialmente. Para além disso é possível observar uma diminuição do diâmetro uterino ecograficamente após 3 a 9 dias de tratamento, o cessamento do corrimento vaginal em 4 a 7 dias e um leucograma normal dentro de 6 a 15 dias (Nelson & Feldman, 1982; Gobello, Castex, Klima, Rodríguez, & Corrada, 2003; Corrada, Arias, Rodríguez, Tortora & Gobello, 2006; England, Freeman & Russo, 2007; revisto por Mateus & Eilts, 2010).

Os agonistas da dopamina são compostos alcaloides derivados da ergotamina que atuam como antagonistas da prolactina, 25 dias após a ovulação na cadela e 15-20 dias após a ovulação na gata (actividade anti-luteotrófica). Estes compostos podem ser utilizados de forma isolada ou em associação com PGF2 α em doses baixas (tratamento com duração média de 7 dias). Esta combinação potencializa os efeitos luteolíticos de cada fármaco acelerando a luteólise, e permite a diminuição das doses de prostaglandina, o que reduz os seus efeitos secundários (Verstegen *et al.*, 2008; revisto por Mateus & Eilts, 2010; Hollinshead & Krekeler, 2016). Os agonistas da dopamina usados com maior frequência são: a Cabergolina (5 μ g/kg uma vez por dia, SID) e a Bromocriptina (10-25 μ g/kg BID ou TID). A Cabergolina está associada a menos efeitos secundários, enquanto que a Bromocriptina está comumente ligada a vômitos, anorexia, depressão e alterações comportamentais. Dada a esta particularidade e à possibilidade de apenas uma administração diária, a Cabergolina é a mais utilizada (Verstegen *et al.*, 2008; Hollinshead & Krekeler, 2016).

A ação conjunta entre os agonistas da dopamina e a PGF2 α , acelera a diminuição da concentração sérica de progesterona, de 3 a 4 dias para 24 a 48 horas e reduz os dias necessários para a abertura cervical, para 1 ou 2 no máximo (Verstegen *et al.*, 2008).

Em cadelas, Corrada e colaboradores (2006) obtiveram uma taxa de sucesso de 80% com um protocolo combinado de cabergolina (5 μ g/kg PO) e cloprostenol (1 μ g/kg SC), ambos administrados uma vez por dia, durante 7 dias. Neste estudo, a administração de cloprostenol foi continuada durante 14 dias quando não era observada resposta ao tratamento. Enquanto que England *et al.* (2007), obteve cerca de 95% de taxa de sucesso com a combinação de 5 μ g/kg de cabergolina (PO) e de cloprostenol na mesma dose, a cada 3 dias durante 10 dias.

Os antagonistas dos recetores da progesterona (aglepristona), também podem ser usados no tratamento da piómetra. Estes antagonistas têm a capacidade de se ligarem aos recetores da progesterona com maior afinidade que a progesterona natural, o que leva a uma diminuição da concentração da progesterona. Esta diminuição impede os efeitos da progesterona sobre o útero e sobre a imunidade local e provoca o relaxamento do cérvix (Arnold *et al.*, 2006; revisto por Mateus & Eilts, 2010). Devido a estes efeitos os antagonistas dos recetores da progesterona também podem ser utilizados no tratamento de metrites e na indução do parto e aborto (Fieni, 2006; Baan *et al.*, 2008).

A informação relativa à capacidade destes fármacos induzirem contrações uterinas é controversa (Revisto por Mateus & Eilts, 2010). Alguns estudos colocam a hipótese de que as contrações uterinas são induzidas, indiretamente, pela liberação de prostaglandinas endógenas pelo útero, como consequência do processo inflamatório associado à piómetra (Verstegen *et al.*, 2008). Pela experiência de Verstegen *et al.*, (2008), as contrações uterinas associadas ao uso de antagonistas dos recetores da progesterona não são suficientemente perceptíveis para permitir o seu uso seguro sem estar associado às prostaglandinas. Nas gatas, a combinação destes fármacos também é extremamente importante na luteólise devido à maior resistência do corpo lúteo que se verifica nesta espécie (Hollinshead & Krekeler, 2016).

Fieni (2006), mostrou que a combinação de aglepristona (10 mg/kg SC no dia 1, 2 e 8) com cloprostenol (1 μ g/kg SC do dia 3 ao 7) foi mais eficiente no tratamento da piómetra aberta e fechada em cadelas do que o uso apenas da aglepristona, com uma taxa de sucesso no dia 90 de 84% e 60%, respetivamente. Neste estudo não foi observada nenhuma reincidência entre o dia 30 e o dia 90 após o início do tratamento, devido à repetição, quando necessária, da administração de aglepristona no dia 14 e no dia 28. Contudo 12 e 24 meses após o tratamento foi observada uma taxa de reincidência de 13% e 19%, respetivamente. Devido à baixa biodisponibilidade que aglepristona apresenta na gata, a dose recomendada nesta espécie é superior à da cadela, 15 mg/kg SC no dia 1, 2 e 8 (Hollinshead & Krekeler, 2016).

No estudo de Nak (2009) a administração de aglepristona (10mg/kg SC, SID no dia 1, 2, 7 e 14) em combinação com trimetoprim/ sulfadoxina (15 mg/kg SC SID durante 7 dias) apresentou uma taxa de sucesso de 90% no tratamento de gatas com piómetra. Nos 2 anos seguintes a este tratamento não foi detetada nenhuma reincidência.

Quando a aglepristona é associada à PGF2 α , a primeira deve ser administrada 48 horas antes para diminuir o risco de rutura uterina em situações de piómetra fechada. Na presença de alterações hepáticas ou renais, o uso deste fármaco está contraindicado (Fieni, 2006; Hollinshead & Krekeler, 2016).

Na tabela que se segue estão descritos os diferentes protocolos utilizados no tratamento médico da piómetra.

Tabela 3- Protocolos utilizados no tratamento de piómetra em cadela e gata.

| Substância activa | Protocolo | Doses | Ação |
|----------------------------------|---|---|--|
| PGF2 α | <u>Conservativo:</u> 1-2x/dia, durante 3 a 5 dias (ou até resolução). | <u>Cadela e gata:</u> 0,1-0,25 mg/kg SC | Luteolise; Contrações do miométrio; abertura do cérvix. |
| | <u>Doses baixas:</u> 3-5x/dia durante 3 dias (ou até resolução). | <u>Cadela e gata:</u> 1º dia: 10-15 μ g/kg SC; 2º dia- 25 μ g/kg SC; 3º dia- 50 μ g/kg SC. | |
| Agonistas da dopamina | Cabergolina | 1x/dia. | <u>Cadela e gata:</u> 5 μ g/kg PO. |
| | Bromocriptina | 2-3x/dia. | <u>Cadela:</u> 25 μ g/kg PO. <u>Gata:</u> 10-25 μ g/kg PO |
| Antagonistas dos recetores da P4 | Aglepristona | Dia 1, 2, 8, 15 e 24. <u>Cadela:</u> 10 μ g/kg SC. <u>Gata:</u> 15 μ g/kg SC. | Antagonistas dos recetores da P4; Relaxamento cervical; Luteólise. |

2. *Escherichia coli*

Escherichia coli é uma bactéria Gram negativa, anaeróbia facultativa e bastante comum no trato gastrointestinal de humanos e animais. Pertence à família Enterobacteriaceae e geralmente apresenta uma relação de simbiose com o seu hospedeiro permitindo a manutenção da homeostase na flora microbiana intestinal do mesmo (Sousa, 2006; Bien, Sokolova, & Bozko, 2012).

As diferentes estirpes de *E.coli* podem classificar-se em 3 grupos, com base em critérios genéticos e clínicos: as comensais, as patogênicas intestinais (INPEC- *intestinal pathogenic E. coli*) e as patogênicas extraintestinais (EXPEC-*Extraintestinal pathogenic E. coli*) (Russo & Johnson, 2000). As estirpes comensais normalmente estão confinadas ao lúmen intestinal e raramente causam doença, exceto em animais debilitados ou imunodeprimidos ou em situações em que a barreira intestinal se torna permeável. Algumas estirpes comensais podem assumir natureza patogénica pela aquisição de fatores de virulência específicos (por via de bacteriófagos, plasmídeos, transposões e ilhas de patogenicidade) que conferem maior capacidade de adaptação a novos nichos e, conseqüentemente, habilidade de causar um amplo espectro de doenças (Bien et al., 2012). Nas INPEC, associadas às afeções intestinais, incluem-se as estirpes de *E. coli* enteropatogénica (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) e as estirpes de *E. coli* aderente invasiva (AIEC). As EXPEC, apesar de terem a capacidade de colonizar o intestino, tal como as comensais, são responsáveis por provocar infeção noutros nichos do hospedeiro. Neste grupo incluem-se as estirpes de *E. coli* associadas a sépsis (SEPEC), *E. coli* uropatogénica (UPEC) e as estirpes de *E. coli* associadas a meningites neonatais (NMEC) (Siqueira et al., 2009; Moriel et al., 2012). As estirpes de *E. coli* obtidas a partir de úteros de cadelas com piómetra apresentam grande semelhança às estirpes de infeções do trato urinário (ITU), possivelmente porque ambas as infeções surgem à medida que as bactérias ascendem da flora vaginal ou intestinal do hospedeiro (Hagman & Kühn, 2002). Chen, Wright, Lee, & Browning (2003), mostraram que a prevalência de genes que codificam para fatores de virulência detetados nas estirpes de *E. coli* associadas a piómetra era similar à observada nas estirpes UPEC.

As estirpes de *E. coli* associadas a piómetra de cadela possuem múltiplos genes que codificam para fatores de virulência típicos das *E. coli* extraintestinais, dos quais se destacam, os sistemas de adesão, toxinas e sistemas de captação de ferro.

Adesinas

As adesinas, nomeadamente as de estrutura fimbrial, conferem adesão da bactéria a recetores na superfície das células do hospedeiro, estão envolvidas na sinalização entre as células hospedeiras e bacterianas e na invasão bacteriana (Emody, Kerényi, & Nagy, 2003; Brito, Vidotto, Berbel, & Tagliari, 2004; Bien et al., 2012). Em isolados de *E. coli* de piómetra,

foi observado que os genes fimbriais mais prevalentes são os que codificam para as fímbrias do tipo1 (100%) , seguidos dos genes das fímbrias F1C (77%) e fímbrias P (48%) (Mateus *et al.*, 2013). Krekeler *et al.*, (2013) verificaram que *E. coli* é capaz de compensar a deleção de dois de três genes que codificam para adesinas (fimH, papGIII e sfa), mantendo a capacidade de adesão ao endométrio da cadela. Este facto evidencia um mecanismo de redundância funcional entre adesinas.

LPS

O LPS (lipopolissacárido), componente estrutural da parede celular das bactérias gram-negativas, é um importante fator de virulência de *E. coli*. O LPS é constituído por 3 subunidades: núcleo oligossacárido, lípido A (endotoxina) e antígeno O. Este último componente constitui a porção variável do LPS e o lípido A é responsável pela atividade de endotoxina do LPS. A libertação desta endotoxina após a morte e desintegração das bactérias está associada aos sinais clínicos associados à endotoxémia característicos de piómetra (Revisto por Mateus & Eilts, 2010; Willis & Whitfield, 2013).

Sistemas de captação de Ferro

O ferro é essencial para diversos processos celulares, nomeadamente transporte e armazenamento de oxigénio, síntese de DNA, transporte de eletrões e metabolismo de peróxido por parte de *E. coli*. Este elemento é um fator limitante à multiplicação bacteriana no hospedeiro, e consequentemente, ao estabelecimento da infeção. O crescimento bacteriano em ambientes com restrição de ferro requer mecanismos eficazes de captação deste elemento que no hospedeiro não se encontra disponível na sua forma livre, mas pelo contrário, está ligado a proteínas (ferritina, transferrina, lactoferrina, grupo heme)(Johnson, 1991; Emody *et al.*, 2003). São conhecidos vários sistemas de captação de ferro de *E. coli*: sideróforos, moléculas com afinidade para o ferro que o remove das proteínas transportadoras; transportadores de metais (proteínas SitABCD); e o receptor ChuA (de ligação ao grupo heme) (Miethke & Marahiel, 2007). De entre estes, a aerobactina (codificada pelos genes *iucABCD*) é o sideróforo mais eficaz na tomada de ferro (Johnson, 1991). As estirpes de *E. coli* possuem no seu genoma genes que codificam para vários sistemas de captação de ferro, que atuam consoante diferentes estímulos externos e proteínas existentes (Valdebenito, Crumbliss, Winkelmann, & Hantke, 2006). De facto, as estirpes de *E. coli* associadas a piómetra de cadela possuem vários genes (*fyuA*, *iucD*, *iroN*, *fepA*, *sitA* e *chuA*) que codificam para diferentes sistemas de captação de ferro, o que evidencia uma redundância funcional e/ou uma maior vantagem competitiva para sobrevivência e persistência no útero (Mateus *et al.*, 2013). No entanto, destaca-se o facto de os genes *fyuA* e *chuA* serem os mais frequentemente detetados nos isolados de *E. coli* de piómetra, estando

presentes em 100% e 93% dos isolados, respetivamente (Henriques, Silva, Lemsaddek, Lopes-da-Costa, & Mateus, 2014).

Toxinas

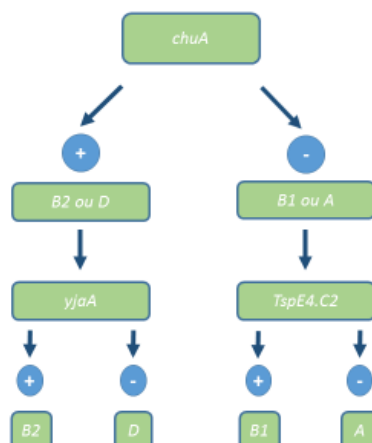
Os genes que codificam para a toxina α -hemolisina (HlyA) e fator citotóxico necrosante 1 (CNF1) são dos genes que codificam para fatores de virulência mais frequentemente detetados em isolados de *E.coli* de piómetra e Infecções do trato urinário (Siqueira *et al.*, 2009). No que se refere à piómetra, os genes que codificam para estas toxinas foram detetados em 52% dos isolados (Henriques *et al.*, 2014).Consequentemente, a α -hemolisina e o fator citotóxico necrosante são as principais toxinas envolvidas na destruição do tecido uterino.

A α -hemolisina é uma toxina com ação dose dependente. Em concentrações elevadas causa a lise de eritrócitos e de células nucleadas e em concentrações baixas induz a apoptose em células alvo do hospedeiro (linfócitos T, células renais) (Bien *et al.*, 2012).O CNF1 é uma toxina que altera o processo de fagocitose polimorfonuclear, permitindo a entrada das bactérias nas células hospedeiras. Esta toxina está ainda implicada na inibição da citocinese, originando células multinucleadas (Fiorentini *et al.*, 1997; Doye *et al.*, 2002). Henriques *et al* (2014) verificaram que a infeção uterina em cadelas provocada por *E.coli* β -hemolítica está associada a metrite e maior destruição de tecido, quando comparada à infeção por *E. coli* não hemolítica.

2.1. Grupos Filogenéticos

E. coli pode ser classificada em 4 grupos filogenéticos diferentes: A, B1, B2 e D(Escobar-Páramo *et al.*, 2004). Clermont, Bonacorsi, Bingen & Bonacorsi (2000) desenvolveram um método de reação de polimerase em cadeia (PCR) a partir do qual obtiveram uma precisão de mais de 99% em comparação com o método de referência, na determinação dos grupos filogenéticos das estirpes de *E.coli*. Este protocolo (figura) consiste num PCR triplo em que são utilizados dois genes e um fragmento anónimo de DNA. O gene *ChuA* (necessário para o transporte do grupo heme na *E. coli* enterohemorrágica O157:H7), o *yjaA* (sem função conhecida, inicialmente identificado no genoma completo da *E.coli* K12) e um fragmento de DNA anónimo designado de TSPE4. Este protocolo permitiu a determinação dos grupos filogenéticos e relacioná-los com a respetiva virulência (figura 7).

Figura 7- Esquema de determinação do grupo filogenético de *E. coli*, adaptado de Clermont et al, 2000.



Chegou-se à conclusão que as estirpes EXPEC se enquadram preferencialmente no grupo B2 e em menor escala no grupo D. As estirpes comensais extraintestinais pertencem, normalmente, aos grupos A e B1 (Clermont et al., 2000; Duriez *et al.*, 2001; Escobar-Páramo *et al.*, 2004). Mateus e colaboradores, em 2013, mostraram que as estirpes de *E. coli* isoladas do útero de cadela com piómetra, pertencem maioritariamente (94% dos casos) ao grupo filogenético B2, associado a um elevado potencial de virulência. De facto, demonstrou-se que o número médio de genes que codificam para fatores de virulência era superior nestes isolados, quando comparado com os isolados pertencentes a outros grupos filogenéticos (A, B1 e D) (Mateus *et al.*, 2013). A presença de um elevado número de genes que codificam para determinantes de virulência nas estirpes de *E. coli* associadas a piómetra sugere ainda que é necessário um elevado potencial de virulência para colonizar e causar doença no útero. De entre os vários fatores de virulência detetados no genoma destes isolados, destacam-se os genes que codificam para adesinas (*fimH*, *papEF*, *sfa/focDE*) toxinas (*cnf1*, *hlyA*) e sistemas de aquisição de ferro (*fyuA*, *fepA*, *sitA*, *iroN*, *iucD*) (Mateus *et al.*, 2013; Henriques *et al.*, 2014).

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Amostra analisada.

Para este estudo foi utilizada uma amostragem de 43 animais (26 cadelas e 17 gatas). Estes animais foram submetidos a uma OVH, por diagnóstico/suspeita de piómetra, e foi recolhida toda a informação possível de cada animal relativamente:

- Exame de estado geral e sinais clínicos;
- História reprodutiva;
- Hemograma, bioquímicas séricas e concentração de progesterona;
- Citologia vaginal;
- Exame ecográfico do tracto reprodutivo;
- Avaliação bacteriológica do corrimento vaginal e/ou do conteúdo uterino;
- Alterações histopatológicas ao nível do útero e ovários.

Os dados clínicos, os dados dos exames complementares e amostras biológicas foram obtidos em diferentes hospitais/ clínicas: Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, Hospital Veterinário da Estefânia, Clínica MVET-Moita, Clínica IZQC Tercena (Instituto Zoófilo Quinta Carbonne) e AZevet- Clínica Veterinária de Brejos de Azeitão, Lda.

1.1. Anamnese

Para a recolha de dados sobre o exame de estado geral, sinais clínicos e história reprodutiva de cada animal, foi realizado um questionário que, com a devida autorização dos donos, foi preenchido no momento da consulta. Na impossibilidade de estar presente em todas as consultas, a informação necessária foi reunida pelo veterinário/ estagiário responsável pelo caso e quando necessário contactou-se telefonicamente o dono do animal para obter os parâmetros em falta. Os dados obtidos dependeram do conhecimento e sensibilidade dos donos.

O questionário encontra-se em anexo (anexo 2) e pretendeu caracterizar determinados parâmetros, nomeadamente: idade, data do último cio, ninhadas anteriores. Foram também registados os dados referentes a temperatura corporal (Robert & Lusk, 1989), frequência cardíaca e respiratória (Rijnberk & Brom, 2009), se a piómetra era aberta ou fechada e sinais clínicos como a presença de poliúria e polidipsia, anorexia, vômito, entre outros.

1.2. Exames complementares

Hemograma e perfil bioquímico

Após colheita de uma amostra de sangue para tubo com EDTA (hemograma) e para tubo com heparina (perfil bioquímico), os seguintes parâmetros bioquímicos foram avaliados: alanina-amino transferase (ALT), fosfatase alcalina (FAS), proteínas totais, albumina, ureia e

creatinina. A maioria das análises de sangue foi efetuada no laboratório de análises clínicas Braço Forte da FMV.

Síndrome de Resposta inflamatória Sistémica

A identificação das cadelas e gatas com SRIS foi feita com base nos critérios definidos pelo estudo de Randels & Ecc (2013). Deste modo as cadelas tinham de apresentar pelo menos 2 e as gatas pelos menos 3 dos critérios descritos na tabela 4 de forma a considerar-se a presença de SRIS.

Tabela 4- Critérios para o diagnóstico de SRIS.

| Critérios | Cadelas | Gatas |
|--|----------------|--------------|
| Temperatura rectal (°C) | <38,1 ou >39,2 | <37,7 ou >40 |
| Frequência Cardíaca (bpm) | >120 | <140 ou >225 |
| Frequência Respiratória (rpm) | >20 | >40 |
| Leucócitos Totais (x10³) | <6 ou >16 | <5 ou >19 |

Exame ultra-sonográfico

Sempre que possível, o tracto reprodutivo foi avaliado por ecografia (Sonoline G50, Siemens Medical Solutions, USA) com vista ao registo das seguintes características; diâmetro dos cornos uterinos, presença de HQE, ecogenicidade do conteúdo uterino, alterações nos ovários.

1.3. Determinação da fase do ciclo éstrico.

A fase do ciclo éstrico foi determinada com base (1) na data do último cio; (2) na análise da citologia vaginal, (3) na concentração da progesterona sérica e (4) nas estruturas ováricas presentes. A partir da zaragatoa vaginal foi feito um esfregaço por aposição em lâmina de vidro, que após secagem ao ar foi corado com Giemsa (Giemsa stain modified, Accustain®, Sigma-Aldrich, St Louis, EUA). Para o doseamento da concentração de progesterona, procedeu-se à colheita de sangue em tubo seco, centrifugação a 13000 g durante 5 minutos e armazenamento do soro a - 20°C, até determinação da concentração da progesterona no laboratório de Endocrinologia da FMV-UL. O doseamento da progesterona sérica foi efetuado sem extração da amostra por quimiluminescência (Immulite 1000, Siemens Healthcare Diagnostics, Lda,. Amadora, Portugal) utilizando um kit comercial (Immulite 1000 Progesterone Kit, Siemens). O coeficiente de variação inter-ensaio para o controlo C1 (1,58 ng/mL) e C2 (5,1 ng/mL) variou entre 2-4% (K9 CON, Siemens).

1.4. Análise bacteriológica do corrimento vulvar /conteúdo intrauterino

A partir da zaragatoa do corrimento vaginal ou do conteúdo intra-uterino colhido após OVH procedeu-se à análise microbiológica no laboratório de Microbiologia da FMV-UL. As amostras foram inoculadas em dois meios sólidos: Agar Columbia suplementado com 5% de sangue de carneiro (43041, bioMérieux SA, France) (COS) e Agar McConkey (CM0115, Oxoid, UK-United Kingdom). Estes meios de cultura foram incubados durante 24 horas a 37 °C. Após incubação, foi feita a repicagem das colónias mais prevalentes e macroscopicamente distintas, independentemente da capacidade de degradação da lactose, para novas placas com meio COS. Após a incubação (24h/ 37°C), procedeu-se à confirmação da pureza e à identificação da morfologia da cultura através da coloração diferencial de Gram.

Posteriormente, utilizou-se o teste da oxidase (Bactident Oxidase, 1.13300.0001, Merck KGaA Darmstadt, Germany) para bactérias Gram-negativas e o teste da catalase para bactérias Gram-positivas, para a identificação da família e, conseqüente, determinar qual o teste bioquímico mais adequado (tabela 5).

Os isolados Gram-negativo e oxidase negativa, foram identificados através de uma galeria IMViC (Simmons Citrate Agar, CM155, OXOID Ltd. Basingstoke, Hampshire, England; MR-VP Broth, 610032, Liofilchem, Italy; SIM Medium, 1.05470, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) (Tabela X).

Tabela 5- Testes de identificação bioquímica utilizados para identificação da família dos isolados.

| | Bacilos de Gram- negativo | Cocos de Gram- positivo |
|---------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Oxidase negativos | IMViC ou API 20 E | N/A* |
| Oxidase positivos | API 20 NE | N/A* |
| Catalase negativos | N/A* | API 20 Strep |
| Catalase positivos | N/A* | API 20 Strep |

*N/A – Não aplicável

Todos os isolados foram armazenados a -80°C em criotubos em Brain Heart Infusion Broth (BHlb) e 30% de glicerol.

1.5. Caracterização dos isolados de *E. coli*

Análise fenotípica das colónias de *E. coli*.

Os fenótipos das colónias (não mucoide (NM), mucoide (M), não hemolítico (NH), hemolítico (H)) foram avaliados nas placas de COS após incubação a 37°C durante 24 horas. O fenótipo mucoide/não mucoide foi avaliado através da observação macroscópica do aspeto mucoide

das colónias crescidas nas placas de COS. A atividade hemolítica associada à expressão da α -hemolisina foi avaliada pela formação de um halo de hemólise clara à volta das colónias crescidas nas placas de COS.

Extração de DNA

A extração de ADN foi realizada por uma técnica rápida de fervura, a qual permitiu a obtenção simultânea de ADN cromossómico e ADN plasmídico (Féria, 2001).

Os isolados armazenados em criotubos foram propagados em COS (37°C, durante a noite), tendo-se posteriormente repicado uma colónia isolada para 10 ml de Luria Bertani (MB02803, NZYTech, Lisboa-Portugal) e incubado a 37 °C, durante a noite, com agitação (180 rpm). Após o período de incubação, 2 ml do inóculo foram centrifugados (13.000 rpm, 8 min) e o sedimento suspenso em 500 μ L de água desionizada estéril. Posteriormente procedeu-se a uma nova centrifugação (13.000 rpm, 3 min) e o sedimento resultante foi suspenso em 100 μ L de água desionizada estéril e incubado a 100°C durante 15 minutos. Após nova centrifugação (13.000 rpm, 8 minutos), o sobrenadante foi recolhido e armazenado a -20°C.

Determinação do grupo filogenético

Após confirmação da presença do gene que codifica a subunidade 16S do ARN ribossomal por PCR de acordo com as condições descritas por Chen et al. (2003), a determinação do grupo filogenético foi feita segundo o método descrito por Doumith *et al.* (2012). Este método consiste num PCR- multiplex para detetar as quatro sequências de DNA descritas na tabela 6. Este método permite a discriminação de 4 grupos filogenéticos: A, B1, B2 e D. Foi utilizado como controlo positivo nas reações de PCR a estirpe de referência *E. coli* J96.

Tabela 6- Sequência dos oligonucleotídeos iniciadores e tamanhos dos fragmentos amplificados, adaptado de Doumith et al. (2012).

| Oligonucleótidos de iniciação | Sequência do oligonucleotídeo | Tamanho (bp) |
|-------------------------------|-------------------------------|--------------|
| gadA F | GATGAAATGGCGTTGGCGCAAG | 373 |
| gadA R | GGCGGAAGTCCCAGACGATATCC | 373 |
| chuA F | ATGATCATCGCGGCGTGCTG | 281 |
| chuA R | AAACGCGCTCGCGCCTAAT | 281 |
| yjaA F | TGTTGCGGATCTTGAAAGCAAACGT | 216 |
| YjaA R | ACCTGTGACAAACCGCCCTCA | 216 |
| TSPE4.C2 F | GCGGGTGAGACAGAAACGCG | 152 |
| TSPE4.C2 R | TTGTCGTGAGTTGCGAACCCG | 152 |

1.6. Caracterização histopatológica do útero e ovários

Imediatamente após a OVH, foram colhidas amostras representativas de cada corno uterino e os ovários, que foram colocados em formol tamponado (Formaldeído 4% pH6.9, Merck KGaA, 1.00496.9010, Darmstadt, Alemanha). Depois do período de fixação, os fragmentos foram processados no Laboratório de Anatomia Patológica da FMV- UL. Inicialmente foram cortados e incluídos em parafina, com recurso a um processador de tecidos LEICA TP1020. Seguidamente realizaram-se cortes de 4µm de espessura com um micrótomo, que foram corados com Hematoxilina & Eosina (H&E) (Hematoxylin Solution Gill N°2Accustain®, GHS280, Sigma-Aldrich, St Louis, EUA; Eosin Y Solution Alcoholic with Phloxine, Accustain®, HT110380, Sigma-Aldrich, St Louis, EUA). A caracterização histológica das alterações observadas no útero baseou-se na classificação de De Boschere et al. (2012): piómetra (hiperplásica ou atrófica), HQE (ligeira, grave), endometrite e mucómetra. Em cada corte, foram avaliados a presença ou ausência de determinados parâmetros, nomeadamente: destruição geral do tecido, edema e hemorragia, metrite, grau de dilatação e destruição das glândulas endometriais, localização e grau de infiltração das células de reação inflamatória. Nos cortes dos ovários, foi feito o registo da presença/ausência de corpos lúteos/corpos hemorrágicos, quistos ováricos (foliculares ou luteínicos) e tumores ováricos. As alterações histopatológicas eram consideradas presentes sempre que pelo menos um dos cornos uterinos ou um dos ovários apresentasse a respetiva alteração.

1.7. Análise estatística

A análise estatística foi realizada com recurso ao programa IBM SPSS Statistics para Windows, versão 24.0. A normalidade da distribuição dos dados de variáveis quantitativas foi avaliada pelo teste Shapiro-Wilk. Os dados relativos à idade de gatas e cadelas foram transformados ($\log x + 1$) para normalizar a distribuição e analisados com o teste *One-way* ANOVA. Os dados de variáveis qualitativas foram analisados com o teste exato de Fisher. O nível de significância escolhido foi de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

1. Análise histopatológica

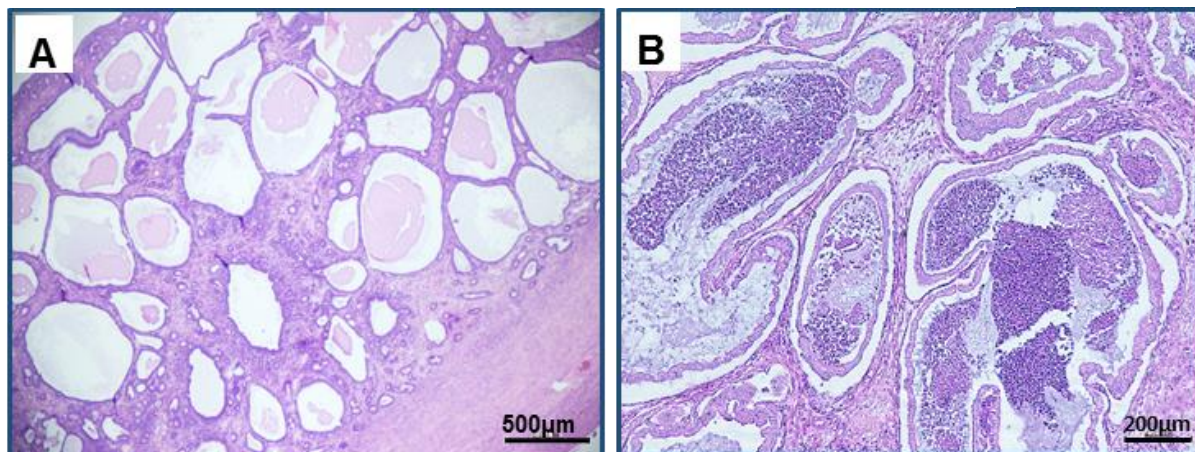
Neste estudo foram utilizadas 26 cadelas com uma idade média de $10,42 \pm 0,55$ anos e 17 gatas com idade média de $5,02 \pm 0,89$ anos ($p < 0,001$).

Os úteros destes animais foram analisados histologicamente (figura 8) e classificados com base nos critérios de De Bosschere e colaboradores (2001). Os diferentes estádios e o resultado desta classificação estão representados na tabela 7.

Tabela 7- Classificação histopatológica dos úteros de cadelas e gatas em estudo.

| Classificação | | Cadelas (n) | Gatas (n) |
|---------------|-----------------------|-------------|-----------|
| | HQE ligeira | 1 | 1 |
| | HQE grave | 1 | 2 |
| | Mucómetra | 1 | 0 |
| | Endometrite | 0 | 1 |
| | Piômetra atrófica | 10 | 10 |
| | Piômetra hiperplásica | 13 | 3 |
| Total | | 26 | 17 |

Figura 8- Aspecto histopatológico de HQE em gata e piômetra em cadela



Legenda: **A-** Exemplo de HQE grave em gata (Dilatação das glândulas endometriais com conteúdo mucopolissacárido no seu interior) (20x); **B-** Exemplo de piômetra em cadela (Dilatação das glândulas endometriais com infiltração de células de reação inflamatória) (40x).

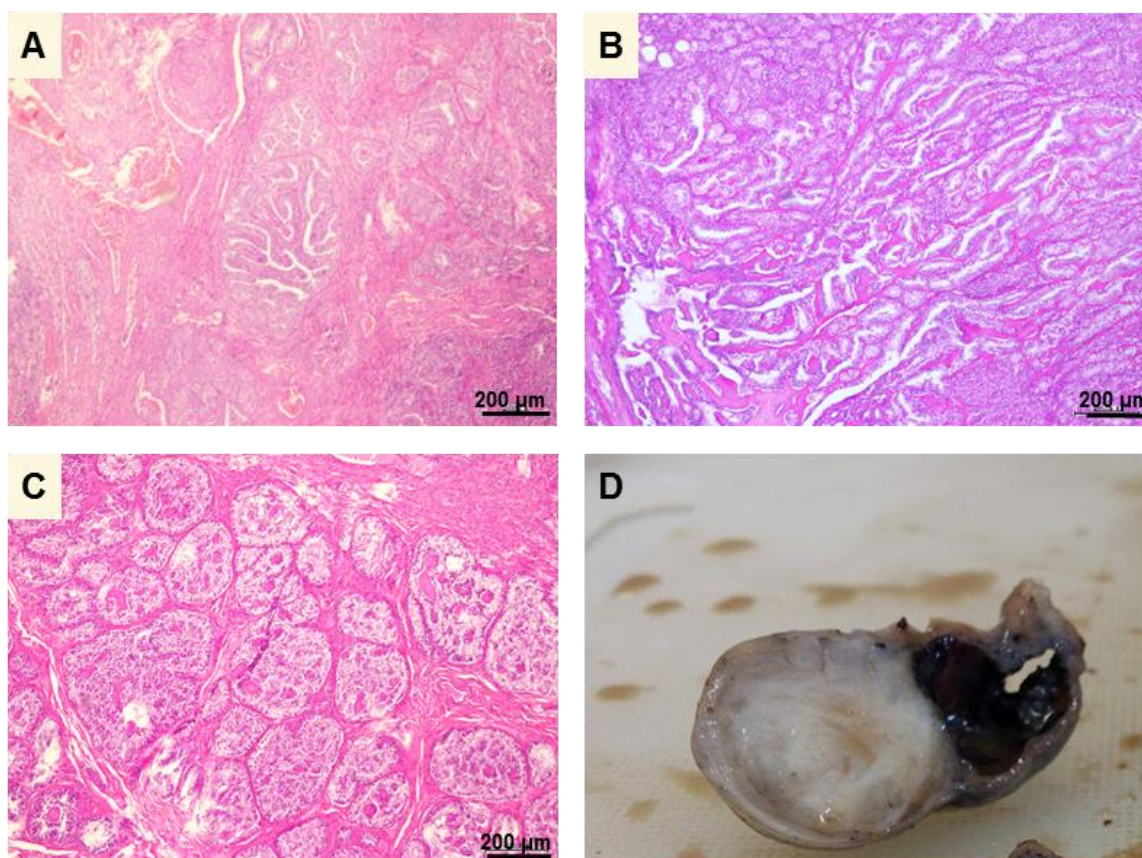
A análise histopatológica do útero e dos ovários (Tabela 8) permitiu detetar outras alterações, nomeadamente, adenomiose, pólipos endometriais (PE), tumores uterinos e ováricos, metrite, quistos foliculares (QF) e quistos luteínicos (QL). Dentro destes parâmetros foram detetadas diferenças significativas entre espécies no número de fêmeas com quistos foliculares ($p < 0,01$) e quistos luteínicos ($p < 0,05$).

Tabela 8- Prevalência das alterações histopatológicas.

| Alterações | Cadelas (%) | Gatas (%) |
|------------|-------------|-----------|
| Adenomiose | 4 | 24 |
| PE | 4 | 18 |
| T.uterino | 4 | 0 |
| T.ovárico | 30 | 0 |
| Metrite | 65 | 65 |
| QF | 87 | 24 |
| QL | 26 | 0 |

Os tumores observados na cadela foram classificados histologicamente em tumor das células da granulosa (n=2), adenoma (n=6) e adenocarcinoma papilar do ovário (n=3) e leiomioma uterino (n=1) (figura 9). O mesmo tipo de tumor foi observado num ou em ambos os ovários (n=2 e n=3, respetivamente). Uma das cadelas apresentou adenocarcinoma num ovário e um tumor das células da granulosa no outro. A cadela com o leiomioma tinha um adenocarcinoma em cada um dos ovários. Nas cadelas que foram diagnosticadas com tumores (n=7), uma foi diagnosticada com HQE ligeira e as restantes com piómetra.

Figura 9- Aspeto histopatológico de adenoma e adenocarcinoma papilar do ovário e tumor das células da granulosa. Aspeto macroscópico de leiomioma.



Legenda: **A-** Adenoma papilar do ovário numa cadela com 14 anos e com piómetra (o agente isolado foi *Citrobacter freundii*); **B-** Adenocarcinoma papilar do ovário e **C-**Tumor das células da granulosa, ambos numa cadela com 12 anos e com piómetra (*Streptococcus sp.*); **D-** leiomioma numa cadela com 13 anos e com piómetra (*E. coli*).

2. Piómetra

Como referido anteriormente, 23 cadelas e 13 gatas foram diagnosticadas com piómetra.

Os dados relativos aos sinais clínicos, exame de estado geral, hemograma e bioquímicas de todos os casos de piómetra em estudo encontram-se em anexo (Anexo 3).

2.1. Análise bacteriológica

As bactérias Gram-negativas foram os agentes isolados com maior frequência a partir do conteúdo intrauterino/corrimento vulvar (cadelas: 87%; gatas: 85%). As bactérias Gram-positivas apenas foram isoladas em 13% das cadelas e 8% das gatas. A análise bacteriológica deu negativo numa das gatas.

Nas cadelas foram isoladas as seguintes bactérias: *E. coli* (n=16), *Citrobacter freundii* (n=1), *Klebsiella spp.* (n=2), *Pseudomonas spp.* (n=1), *Enterobacter cloacae* (n=1), *Streptococcus spp.* (n=2) e *Staphylococcus spp.* (n=1). Nas gatas apenas foram isoladas dois tipos de bactérias: *E. coli* (n=11) e *Staphylococcus spp.* (n=1). De igual forma, numa das cadelas em estudo foram isoladas estas duas bactérias.

No grupo das cadelas, 26% das piómetras estavam associadas a tumores nos ovários e/ou no útero. Nestes casos as bactérias isoladas foram: *Staphylococcus spp.* (n=1), *Citrobacter freundii* (n=1), *Klebsiella spp.* (n=1), *E. coli* (n=2) e *Pseudomonas spp.* (n=1).

Escherichia coli foi a bactéria isolada na maioria das cadelas (70%), tendo sido o único agente detetado em 65% dos casos.

2.2. Piómetras por *Escherichia coli*

Dado que *E. coli* foi a única bactéria isolada na maioria das piómetras, optou-se por realizar uma análise pormenorizada destes casos, relativamente à história reprodutiva, sinais clínicos, exame físico, hemograma e análises bioquímicas, concentração de progesterona, caracterização histopatológica, ecografia e citologia vaginal.

As cadelas e gatas pertencentes a esta amostra apresentaram uma idade média de $9,93 \pm 0,67$ anos e $3,22 \pm 0,87$ anos, respetivamente ($p < 0,01$).

2.2.1. Caracterização do grupo filogenético e do fenótipo

Das 16 cadelas, foram obtidos 17 isolados de *E. coli*, dos quais 94% eram do grupo filogenético B2 e 6% do grupo filogenético B1 (isolado em associação com *Staphylococcus spp.*). Nas gatas (n=11), os 12 isolados de *E. coli* pertenciam ao grupo filogenético B2.

Na tabela 9 estão descritas as diferentes conjugações de fenótipos dos isolados de *E. coli* do grupo filogenético B2 recolhidos do útero das cadelas e gatas em estudo.

Tabela 9- Distribuição dos fenótipos dos isolados de *E. coli* pertencentes ao grupo filogenético B2

| Fenótipos | Cadelas (n=15) | Gatas (n=11) |
|-----------|----------------|--------------|
| NH + NM | 4 | 1 |
| NH + M | 3 | 0 |
| H + NM | 9 | 10 |
| H + M | 0 | 1 |
| Total | 16 | 12 |

O fenótipo hemolítico foi detetado em 56% dos isolados de cadelas e 92% dos isolados de gata ($p < 0,05$). O fenótipo mucoide foi detetado em 19% das cadelas e em 8% das gatas ($P > 0,05$)

2.2.2. História reprodutiva

Nas cadelas ($n=15$), 87% dos tutores conseguiram detetar o último cio, tendo sido apresentadas à consulta em média $5,5 \pm 1,12$ semanas após o mesmo. Nas gatas ($n=11$), apenas 64% dos tutores detetaram o último cio e foram apresentadas à consulta ao fim de $5,57 \pm 0,75$ semanas. Todas as cadelas tiveram dois ciclos éstricos por ano.

Neste estudo foi também avaliada a presença de outros animais no habitat das cadelas ($n=15$) e gatas ($n=11$). Os resultados estão representados no gráfico 1 e mostram que a maioria das cadelas e das gatas utilizadas não coabitavam com outros animais.

Gráfico 1 – Coabitação das fêmeas em estudo com outros animais



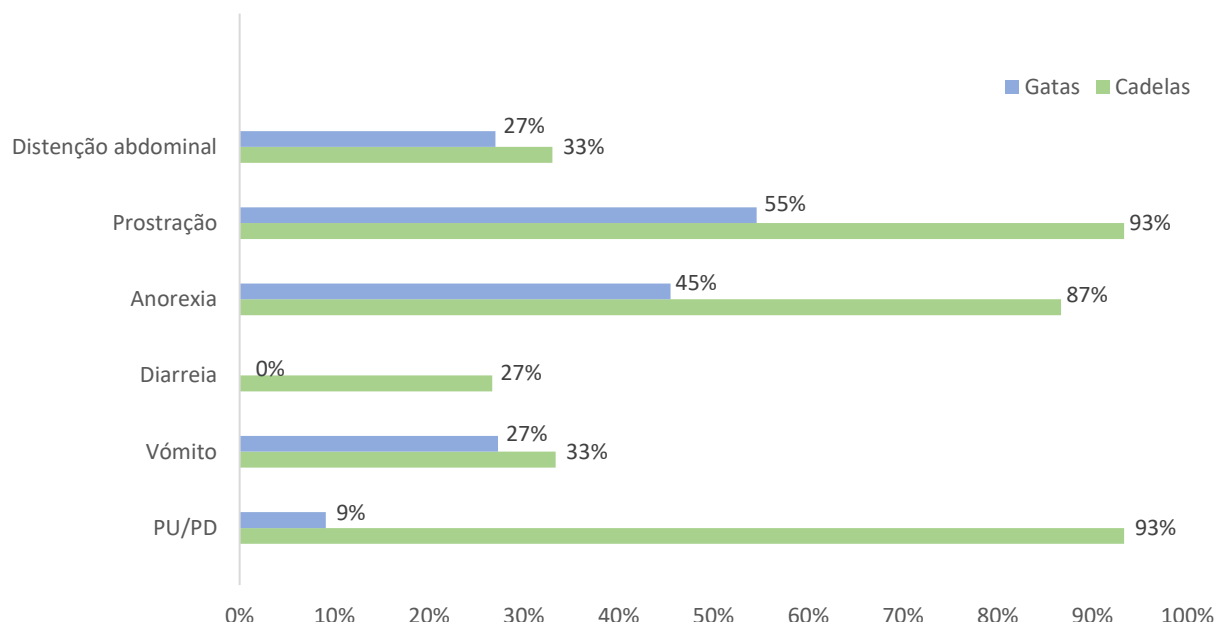
Legenda: A-Coabitação de cadelas com outros animais; B- coabitação de gatas com outros animais.

Destes animais, 79% das cadelas e 70% das gatas eram nulíparas. Nas restantes fêmeas, primíparas, verificou-se que o período médio entre o parto e o diagnóstico de piómetra foi de $7,67 \pm 1,45$ anos nas cadelas ($n=3$) e de $0,41 \pm 0,17$ anos nas gatas ($n=2$). A informação relativa à administração prévia de anti-concepcionais foi possível registar em 13 cadelas e 10 gatas. A administração destes fármacos foi efectuada em três gatas, das quais duas eram primíparas.

2.2.3. Sinais clínicos

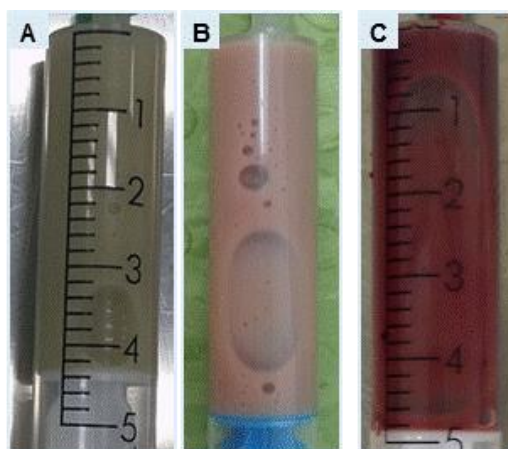
Segundo a observação dos tutores, um maior número de cadelas apresentou poliúria (PU) associada à polidipsia (PD) ($p<0,01$) e a anorexia ($p<0,05$) em comparação com as gatas. No gráfico 2 estão representados os sinais clínicos analisados e a respetiva prevalência em cada espécie. O edema da vulva foi detetado em 60% das cadelas.

Gráfico 2- Prevalência dos sinais clínicos na cadela e na gata.



As piómetras foram classificadas como abertas ou fechadas consoante a presença de corrimento vulvar, sendo que 73% das piómetras de cadela e 82% das piómetras de gata foram classificadas como abertas ($p>0,05$). Este corrimento variou entre mucopurulento a sanguíneo-purulento nas cadelas e de purulento a sanguíneo-purulento nas gatas (figura 10).

Figura 10- Conteúdo uterino recolhido em piómetras de cadela e gata



Legenda: **A-** Conteúdo purulento de cadela; **B-** Conteúdo sanguíneo-purulento de gata; **C-** Conteúdo sanguíneo-purulento de cadela

2.2.4. Exame físico

Na maioria dos animais, os parâmetros avaliados ao exame de estado geral encontravam-se normais, à exceção dos valores das frequências cardíaca e respiratória nas cadelas. A maioria das cadelas apresentava taquicardia e taquipneia. As alterações menos frequentes foram a desidratação e a alteração do tamanho dos linfonodos à palpação. Treze por cento das cadelas e 9% das gatas apresentaram desidratação ligeira e 7% das cadelas desidratação moderada. Em relação ao tamanho dos linfonodos, 7% das cadelas apresentava aumento dos linfonodos submandibulares. A prevalência destes parâmetros está representada na tabela 10.

Para além dos parâmetros descritos acima, verificou-se que 33% das cadelas apresentava alteração na cor das mucosas (7% cianóticas, 20% pálidas, 7% hiperémicas).

Tabela 10- Exame físico

| Parâmetros | Cadelas | | | | Gatas | | | |
|------------------|---------------------|------------|---------------|---------------|---------------------|------------|---------------|---------------|
| | Média ± erro padrão | Normal (%) | Diminuído (%) | Aumentado (%) | Média ± erro padrão | Normal (%) | Diminuído (%) | Aumentado (%) |
| Temperatura (°C) | 38,65±0,21 | 67 | 20 | 13 | 38,66±0,28 | 55 | 18 | 27 |
| FC (bpm) | 129,13±5,22 | 47 | 0 | 53 | 161,36±8,86 | 73 | 9 | 18 |
| FR (rpm) | 38,47±6,17 | 47 | 0 | 53 | 34,27±2,76 | 64 | 0 | 36 |
| Hidratação (%) | | 80 | 20 | 0 | | 91 | 9 | 0 |
| Linfonodos | | 93 | 0 | 7 | | 100 | 0 | 0 |

Nota: os resultados mais frequentes encontram-se a negrito. Os valores de referência encontram-se em anexo (Anexo 4).

2.2.5. Hemograma

Os resultados referentes às alterações apresentadas no hemograma estão descritas na tabela 11. Os valores obtidos na maioria dos animais relativos aos leucócitos, neutrófilos, hematócrito e monócitos encontravam-se alterados. Leucocitose por neutrofilia foi observada em 80% das cadelas e 73% das gatas ($p > 0,05$) e nos casos em que foi possível a contagem diferencial de neutrófilos (13 cadelas; 5 gatas) verificou-se neutrofilia com desvio à esquerda em 85% das cadelas e 80% das gatas. Monocitose foi observada em 71% das cadelas e 27% das gatas ($p < 0,05$). O hematócrito apresentou valores inferiores aos valores de referência em 53% das cadelas e em 9% das gatas ($p < 0,05$). Em 20% das cadelas foram detetados sinais de toxicidade dos neutrófilos. Através da avaliação de determinados parâmetros (eritrócitos, hemoglobina e hematócrito) e tendo sempre em consideração eventuais sinais de desidratação, determinou-se que sete cadelas e duas gatas apresentavam anemia. Anemia com sinais de regeneração foi observada em 5 cadelas (71%) e nas duas gatas (100%). As

restantes cadelas mostravam sinais de anemia não regenerativa pela presença de normocromasia e normocitose.

Tabela 11- Resultados obtidos no hemograma

| Hemograma | Cadelas | | | | Gatas | | | |
|--|---------------------|------------|---------------|---------------|---------------------|------------|---------------|---------------|
| | Média ± erro padrão | Normal (%) | Aumentado (%) | Diminuído (%) | Média ± erro padrão | Normal (%) | Aumentado (%) | Diminuído (%) |
| Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) | 26,76 ± 2,73 | 13 | 80 | 7 | 33,25 ± 5,35 | 27 | 73 | 0 |
| Eritrócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) | 5,75 ± 0,41 | 53 | 0 | 47 | 7,14 ± 0,48 | 82 | 0 | 18 |
| Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$) | 319,54 ± 76,49 | 58 | 17 | 25 | 221,27 ± 41,85 | 63 | 0 | 37 |
| Hemoglobina (g/dl) | 12,57 ± 0,88 | 67 | 0 | 33 | 10,99 ± 0,42 | 100 | 0 | 0 |
| Hematócrito (%) | 36,69 ± 2,26 | 47 | 0 | 53 | 32,55 ± 1,64 | 91 | 0 | 9 |
| VCM (fl) | 64,26 ± 1,47 | 79 | 7 | 14 | 46,35 ± 2,04 | 82 | 9 | 9 |
| HCM (pg) | 22,4 ± 0,41 | 93 | 7 | 0 | 15,83 ± 0,97 | 82 | 18 | 0 |
| CHCM (g/dl) | 35,07 ± 0,84 | 57 | 36 | 7 | 33,54 ± 0,97 | 60 | 30 | 10 |
| Neutrófilos totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$) | 19,98 ± 2,34 | 0 | 87 | 13 | 26,33 ± 4,24 | 27 | 73 | 0 |
| Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) | 3855,93 ± 482,67 | 64 | 29 | 7 | 3680,36 ± 814,62 | 73 | 9 | 18 |
| Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) | 2280,93 ± 427,35 | 29 | 71 | 0 | 2053,91 ± 1447,18 | 73 | 27 | 0 |
| Eosinófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) | 359,07 ± 111,47 | 64 | 7 | 29 | 1077,55 ± 357,88 | 73 | 27 | 0 |
| Basófilos | 7,14 ± 7,14 | 100 | 0 | 0 | 61,82 ± 24,67 | 91 | 9 | 0 |

Nota: os resultados mais frequentes encontram-se a negrito. Os valores de referência encontram-se em anexo (Anexo 4).

2.2.6. Síndrome de resposta inflamatória sistêmica

No presente trabalho, verificou-se que 80% das cadelas e 9% das gatas apresentavam síndrome de resposta inflamatória sistêmica [SRIS ($p < 0,01$)].

2.2.7. Bioquímicas séricas

A maioria das cadelas e das gatas apresentou os resultados das bioquímicas séricas dentro dos valores de referência ($p > 0,05$) (tabela 12).

Tabela 12- Resultados obtidos nas bioquímicas séricas.

| Bioquímicas | Cadelas | | | | Gatas | | | |
|--------------------|---------------------|------------|---------------|---------------|---------------------|------------|---------------|---------------|
| | Média ± erro padrão | Normal (%) | Aumentado (%) | Diminuído (%) | Média ± erro padrão | Normal (%) | Aumentado (%) | Diminuído (%) |
| Albumina (g/dl) | 2,35 ± 0,06 | 80 | 0 | 20 | 2,73 ± 0,14 | 90 | 0 | 10 |
| ALT (UL/37°C) | 39,13 ± 8,35 | 93 | 7 | 0 | 42,18 ± 6,98 | 91 | 0 | 9 |
| FAS (UL/37°C) | 153,08 ± 23,74 | 73 | 7 | 0 | 44,77 ± 14,47 | 91 | 9 | 0 |
| PT (g/dl) | 7,21 ± 0,25 | 71 | 29 | 0 | 7,46 ± 0,43 | 60 | 30 | 10 |
| Ureia (mg/dl) | 39,75 ± 10,34 | 73 | 20 | 7 | 60,54 ± 13,46 | 64 | 36 | 0 |
| Creatinina (mg/dl) | 1,03 ± 0,13 | 80 | 7 | 13 | 1,00 ± 0,10 | 82 | 0 | 18 |

Nota: os resultados mais frequentes encontram-se a negrito. Os valores de referência encontram-se em anexo (Anexo 4).

2.2.8. Concentração de progesterona

O valor médio da concentração de progesterona foi de 5,49±1,68 ng/ml nas cadelas (n=14) e de 3,94±1,32 ng/ml nas gatas (n=10).

Em ambas as espécies, as concentrações de progesterona obtidas nas piómetra abertas foram inferiores às concentrações observadas nas piómetra fechadas (tabela 13).

Tabela 13- Valores de progesterona em piómetras abertas e fechadas.

| Piómetras | Concentração de progesterona (ng/ml) | | | | | |
|-----------|--------------------------------------|--------|--------|--------------------------|--------|--------|
| | Cadelas | | | Gatas | | |
| | valor médio± erro padrão | Máximo | Mínimo | valor médio± erro padrão | Máximo | Mínimo |
| Abertas | 3,00±0,89 (n=11) | 8,6 | 0,22 | 2,32±0,84 (n=8) | 6,8 | 0,2 |
| Fechadas | 14,6±4,25 (n=3) | 21,1 | 6,6 | 10,4±2,5 (n=2) | 12,9 | 7,9 |

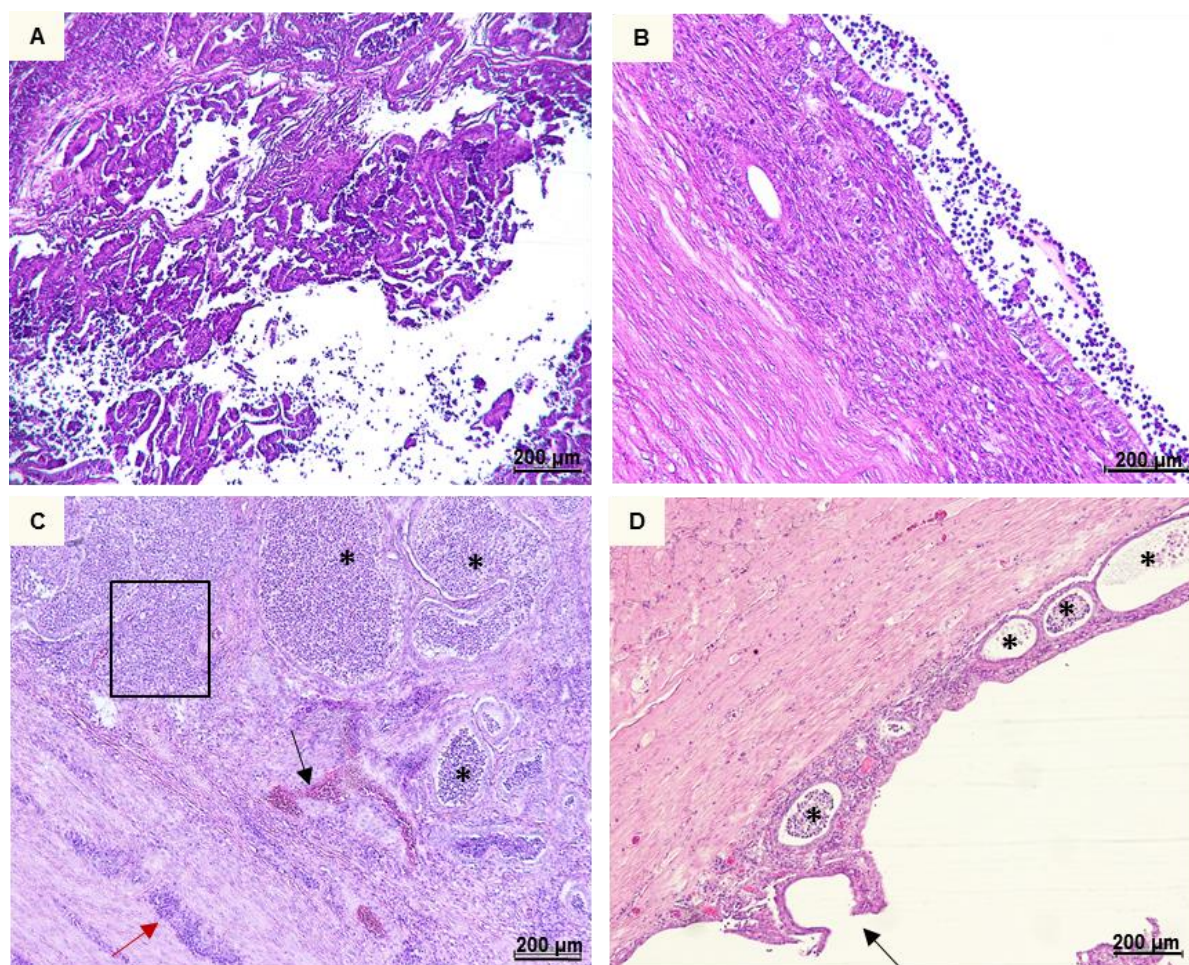
2.2.9. Classificação histopatológica

Na tabela 14 estão descritas as alterações histopatológicas detetadas no útero das cadelas e gatas e a respetiva prevalência (figura 11).

Tabela 14- Prevalência das alterações histopatológicas no útero .

| Alterações histopatológicas uterinas | Cadelas (%) | Gatas (%) |
|---|-------------|-----------|
| Destruição geral do tecido | 93 | 100 |
| Destruição do epitélio luminal | 100 | 100 |
| Edema | 93 | 100 |
| Hemorragia | 87 | 91 |
| Células de reação inflamatória | 100 | 100 |
| Metrite | 73 | 91 |
| Glândulas quísticas com células de reação inflamatória (CRI) no lúmen | 100 | 100 |
| Focos de necrose no endométrio | 87 | 82 |
| Dilatação das glândulas Basais | 100 | 100 |
| Destruição das glândulas Basais | 87 | 100 |
| Dilatação das glândulas Apicais | 91 | 100 |
| Destruição das glândulas Apicais | 100 | 100 |

Figura 11- Exemplos de alterações histopatológicas em úteros de gatas diagnosticadas com piômetra



Legenda: A- Destruição geral do tecido ; B- Destruição do epitélio luminal; C- Foco de necrose (quadrado), glândulas quísticas com células de reacção inflamatória (CRI) no lúmen (*), hemorragia (seta preta), metrite (seta vermelha); D- Dilatação das glândulas endometriais com CRI no lúmen (*), glândula endometrial destruída (seta preta).

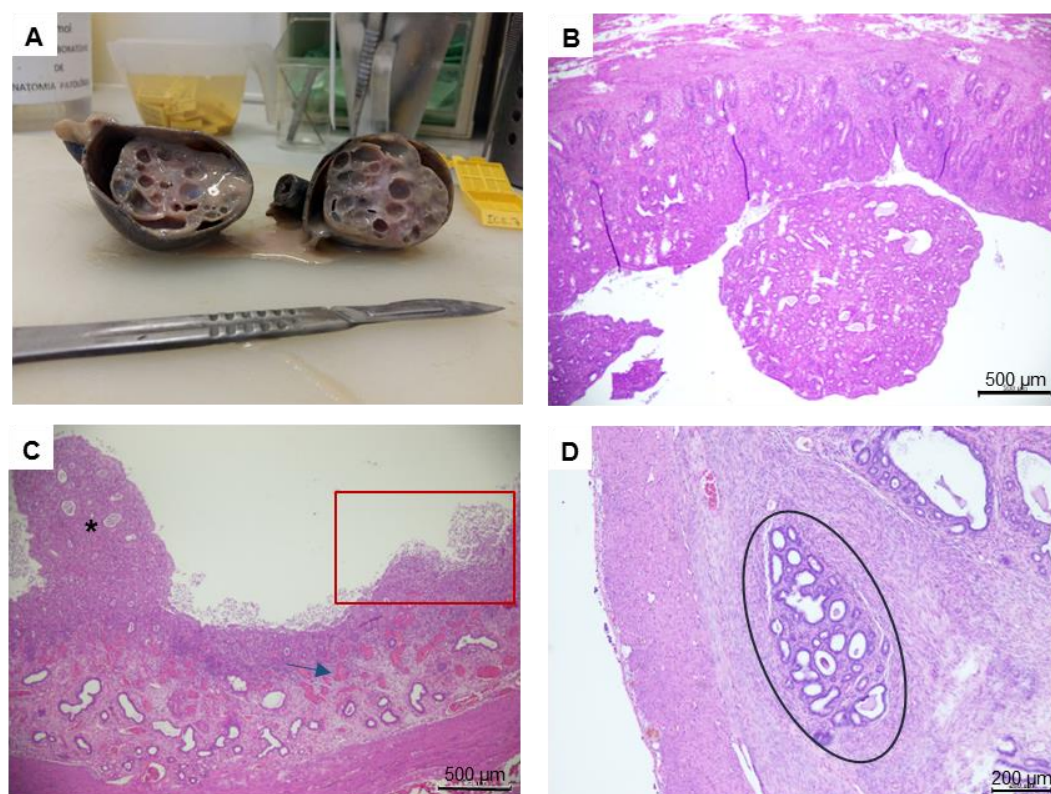
Na avaliação das glândulas endometriais verificou-se que a percentagem de glândulas com infiltração de células de reação inflamatória variava consoante se se tratasse das glândulas basais ou apicais (tabela 15)

Tabela 15- Glândulas endometriais com células de reação inflamatória.

| Glândulas endometriais | Cadelas | Gatas |
|------------------------|---------|-------|
| Basais | 87% | 64% |
| Apicais | 87% | 100% |
| Basais + Apicais | 73% | 64% |

A presença de metrite foi detetada em 67% e 100% nas piómetras atroficas de cadela e de gata, respetivamente ($p < 0,05$). No caso da piómetra hiperplásica, a presença de metrite só foi observada na cadela (78%). Adenomiose verificou-se em 27% das gatas, pólipos endometriais (PE) em 7% das cadelas e 10% das gatas (figura 12) e leiomiomas em 7% das cadelas.

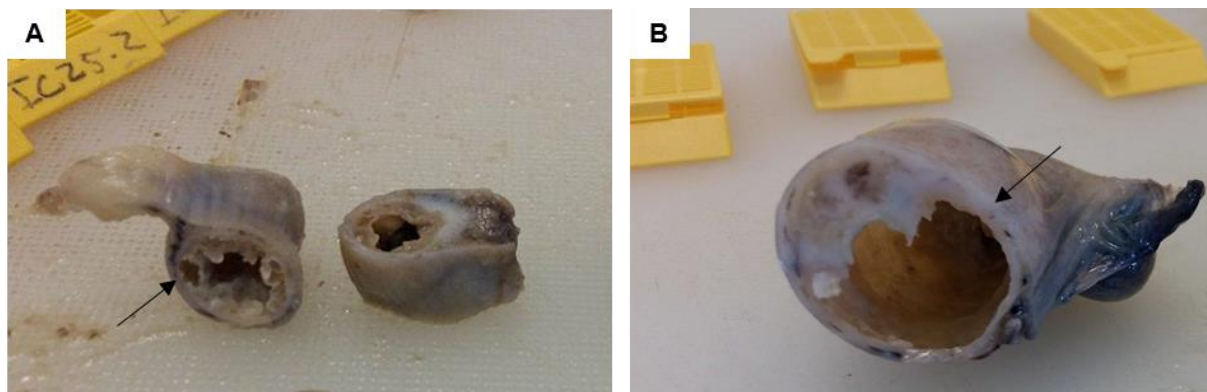
Figura 12- Exemplos de alterações (macroscópicas e microscópicas) encontradas em úteros de cadelas e gatas com piómetra.



Legenda: **A-** Aspetto macroscópico de PE em cadela; **B-** PE em gata; **C-** PE (*), hemorragia (seta), destruição do epitélio (rectângulo) em gata ; **D-** Adenomiose em gata.

Tendo em conta a classificação de De Boscherre (2001), 40% das piómetras de cadela e 91% das piómetras de gata foram classificadas como atróficas ($p < 0,05$). Em contraste, a piómetra hiperplásica foi observada em 60% das cadelas e 9 % das gatas ($p < 0,05$) (figura 13).

Figura 13- Exemplo de piómetra hiperplásica em cadela e piómetra atrófica em gata.



Legenda: A- Hiperplasia quística do endométrio (seta) em piómetra hiperplásica de cadela; B- Atrofia do endométrio (seta) em piómetra atrófica de gata.

Nas gatas, a maioria das piómetras atróficas estava associada à presença de corrimento vulvar (piómetra aberta). Nas cadelas, a presença de corrimento vulvar foi mais frequente na piómetra hiperplásica ($p < 0,05$) (tabela 16).

Tabela 16- Associação entre classificação histológica e a presença de corrimento vulvar em piómetras de cadela e gata.

| Piómetras | Cadelas (n) | | Gatas (n) | |
|---------------|-------------|----------|-----------|----------|
| | Abertas | Fechadas | Abertas | Fechadas |
| Atróficas | 4 | 2 | 8 | 2 |
| Hiperplásicas | 7 | 2 | 1 | 0 |

Como se pode constatar pela observação da tabela 17, a piómetra atrófica foi observada numa fase mais precoce da vida reprodutiva das gatas (3,14 anos) comparativamente à das cadelas (11 anos) ($p < 0,01$).

Tabela 17- Distribuição de idades por piómetra atróficas e hiperplásicas.

| Idade (anos) | Piómetra atrófica | | Piómetra hiperplásica | |
|--------------------|-------------------|-----------|-----------------------|-------|
| | Cadelas | Gatas | Cadelas | Gatas |
| Média± erro padrão | 11± 1,29 | 3,14±0,96 | 9,22± 0,68 | 4 |
| Máximo | 15 | 8 | 13 | - |
| Mínimo | 6 | 0,67 | 7 | - |

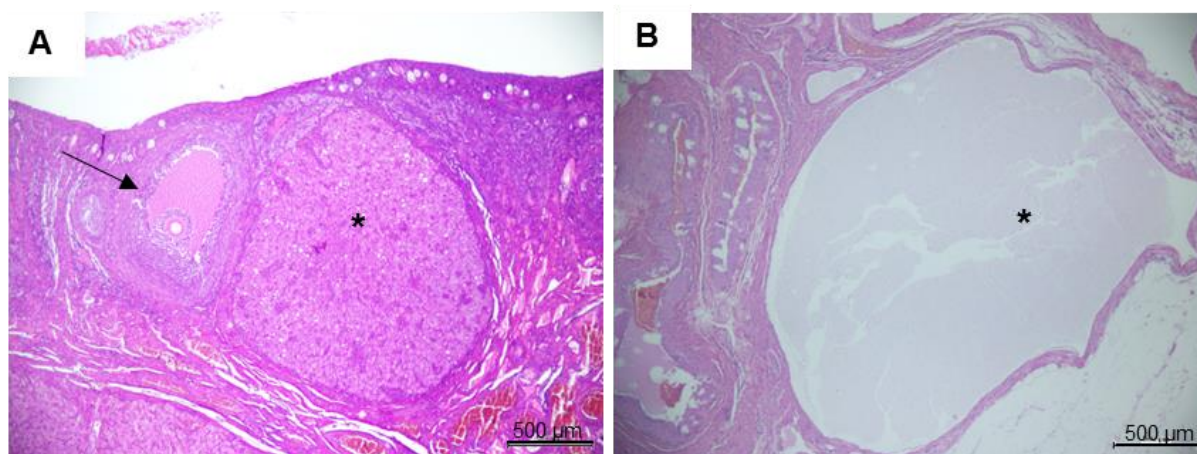
Na tabela 18 estão descritas as alterações observadas nos ovários das cadelas e gatas e a respectiva prevalência. Somente em relação aos números de folículos antrais ($p<0,01$) e de quistos foliculares ($p<0,05$) se observaram diferenças significativas entre espécies.

Tabela 18- Alterações histopatológicas ováricas.

| Alterações histopatológicas ováricas | Cadelas (n=15) | Gatas (n=11) |
|--|----------------|--------------|
| Folículos antrais | 0% | 91% |
| Corpos hemorrágicos | 7% | 0% |
| Corpos lúteos maduros | 27% | 27% |
| Corpos lúteos com < 50% de células com sinais de degenerescência | 47% | 55% |
| Corpos lúteos com > 50% de células com sinais de degenerescência | 27% | 0% |
| Corpos albicans | 53% | 36% |
| Quistos foliculares | 73% | 18% |
| Quistos luteínicos | 27% | 0% |
| Tumores | 13% | 0% |

A figura 14 mostra alguns exemplos das alterações histopatológicas referidas.

Figura 14- Exemplos de alterações histológicas avaliadas nos ovários de cadelas e gatas com piômetra.



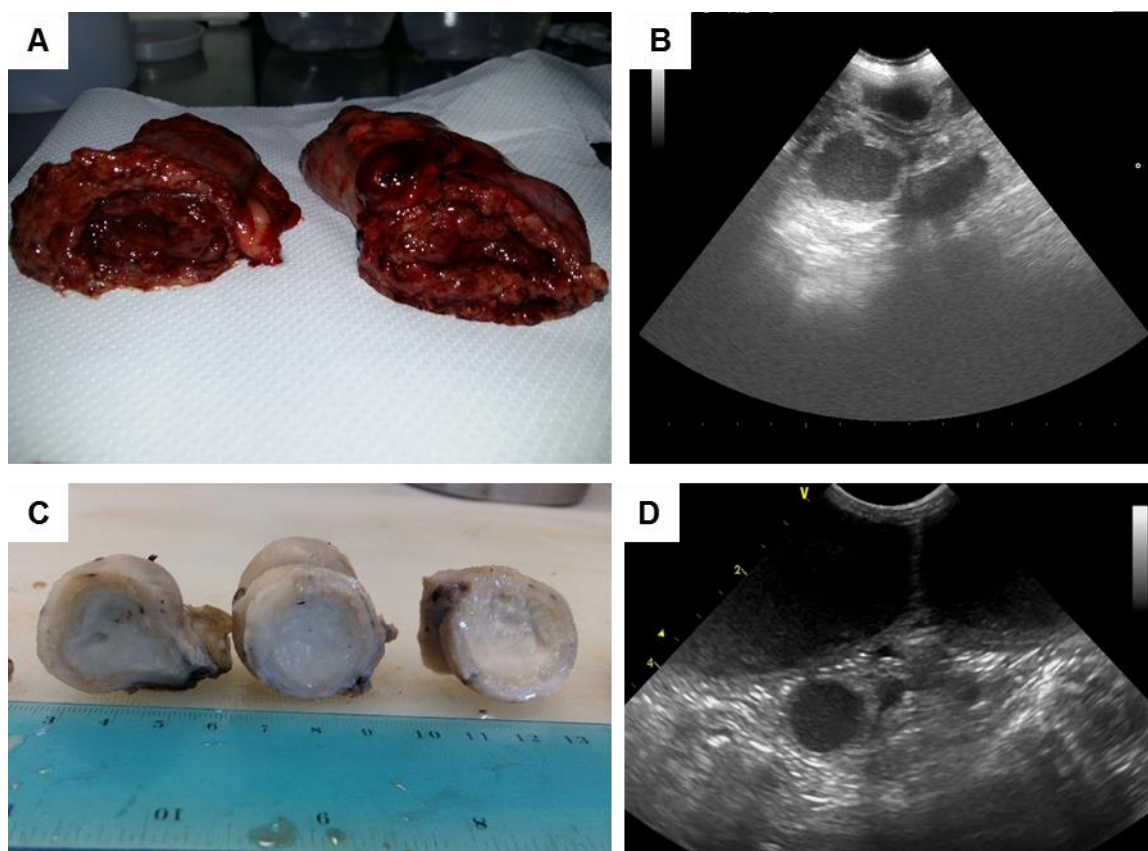
Legenda: **A-** Folículo antral (seta) e corpo lúteo maduro em cadela (*); **B-** Quisto folicular (*) em cadela.

Das cadelas que apresentaram quistos foliculares ($n= 11$), 90% estavam associados apenas a corpos lúteos, 7% a corpos lúteos e a adenoma papilar do ovário e 7% a adenocarcinoma papilar do ovário. Na avaliação da citologia vaginal destas cadelas ($n=10$), verificou-se a presença de 10% a 30% de células superficiais queratinizadas e/ou células intermédias com algum grau de queratinização. No caso da cadela que apresentava quistos foliculares e adenocarcinoma, as células superficiais queratinizadas estavam presentes de forma predominante (80% a 90%). Nas duas gatas, com quistos foliculares, observou-se

aproximadamente 20% a 30% de células superficiais queratinizadas na citologia. Da observação de corpos lúteos em gatas que não coabitavam nem tinham contacto com outros machos concluiu-se que 80% das gatas fizeram ovulações não induzidas pela cópula.

A ecografia permitiu o diagnóstico de piómetra em todas as fêmeas que foram submetidas a este exame (cadela: 93%; Gatas: 64%) (figura 15). No entanto, como as ecografias não foram todas realizadas pelo mesmo operador, os parâmetros avaliados variaram e consequentemente não foi possível estabelecer uma relação entre os achados ecográficos e histopatológicos.

Figura 15- Aspeto macroscópico do útero de cadela e gata com piómetra e respetiva imagem ecográfica.



Legenda: Corte transversal dos cornos uterinos de uma piómetra hiperplásica de cadela (A) e respetiva imagem ecográfica (B) ; Corte transversal dos cornos uterinos de uma piómetra atrófica de gata (C) e respetiva imagem ecográfica (D).

DISCUSSÃO

A piómetra é a doença uterina mais importante em cadelas e gatas intactas, devido à elevada morbidade e possível mortalidade associadas (revisto por Mateus & Eilts, 2010; Pires *et al.*, 2016). No entanto, apesar da piómetra na cadela ser objeto de estudo de diversos grupos de trabalho, a fisiopatologia desta doença é complexa e não está completamente esclarecida. Por outro lado, a informação disponível acerca dos mecanismos associados à piómetra na gata é escassa e a maioria da informação disponível é extrapolada de estudos em cadelas. Sendo que a cadela e a gata têm uma fisiologia reprodutiva muito diferente, este trabalho teve por objetivo a caracterização de diversos aspetos clínicos, bacteriológicos e histopatológicos da piómetra na cadela e na gata.

A fisiopatologia da piómetra é complexa e resulta de uma interação entre diversos fatores etiológicos. Entre eles incluem-se a influência hormonal no ambiente uterino, alterações estruturais existentes no endométrio, como hiperplasia quística, o tipo e potencial de virulência da bactéria e a resposta imunitária uterina (Hagman, 2004; revisto por Mateus & Eilts, 2010).

No presente trabalho, *E. coli* foi o agente isolado na maioria dos casos de piómetra diagnosticados quer nas cadelas quer nas gatas. Embora com menor frequência, outras bactérias gram-negativas e gram-positivas foram isoladas, principalmente nos casos de piómetra na cadela. Estes resultados estão de acordo com o observado por outros autores (Johnston, *et al.*, 2001; Agudelo, 2005; Hagman & Greko (2005); Hollinshead & Krekeler, 2016); Watts, Wright, & Whithear, 1996; Wadas *et al.*, 1996; Fransson *et al.*, 1997; Dhaliwal *et al.*, 1998).

Estas bactérias são frequentemente isoladas da vagina da cadela e da gata durante o pró-estro e estro e podem contaminar o útero durante estas fases (Watts *et al.*, 1996; Kustritz, 2006). Se a contaminação não for adequadamente eliminada pelos mecanismos que constituem a defesa uterina, poder-se-á estabelecer uma infeção uterina durante o diestro.

Com exceção de um isolado, todos os isolados de *E. coli* pertenciam ao grupo filogenético B2. Os resultados deste trabalho corroboram os observados num estudo anterior de Mateus *et al.* (2013) em piómetras de cadelas. Nesse estudo, os isolados de *E. coli* recolhidos do útero de cadelas com piómetra, pertenciam maioritariamente ao grupo filogenético B2 e possuíam mais genes que codificam para fatores de virulência, quando comparados com isolados de cistite e de origem fecal. Apesar de não existirem estudos similares na gata, Tramutta *et al.*, 2011 verificaram que as estirpes de *E. coli* isoladas em casos de cistites em gatas pertenciam na maioria ao grupo filogenético B2 e que apresentavam um maior número de fatores de virulência em comparação com outros grupos filogenéticos. Este facto sugere que as estirpes de *E. coli* isoladas de casos de piómetra apresentam determinados fatores de virulência que conferem vantagem à bactéria na colonização do útero e consequente no

estabelecimento da doença (Chen, Wright, Lee, & Browning, 2003; Mateus *et al.*, 2013; Siqueira *et al.*, 2009, Tramutta *et al.*, 2011).

Interessantemente, 92% dos isolados de *E. coli* de gata tinham fenótipo hemolítico, quase o dobro do observado nos isolados de cadela (56%). Recentemente, Henriques *et al.*, 2014, observaram que a presença de *E. coli* hemolítica estava associada com a ocorrência de metrites e maior destruição do endométrio, em casos de piómetra de cadela. Demonstraram também que a destruição das células epiteliais e do estroma induzidas pela hemolisina é um potencial primeiro passo na patogenia da piómetra por *E. coli*.

A maior prevalência de isolados β -hemolíticos nas piómetras de gata pode estar associado ao facto destas desenvolverem piómetra mais cedo na sua vida reprodutiva. A média de idades nas gatas ao diagnóstico (cerca de 3 anos) foi consideravelmente inferior ao das cadelas (cerca de 10 anos), o que vai de encontro ao observado em estudos anteriores em gatas (Hagman, Strom Holst, Muller, & Egenvall (2014) e Lucas, de Oliveira, & Schossler (2000) e cadelas (Johnston, *et al.*, 2001; Henriques *et al.*, 2016). No entanto, é necessário uma amostragem maior para se poder confirmar esta associação.

A piómetra é característica da fase de diestro, sendo que a progesterona tem um papel fulcral na fisiopatologia da doença (Kempisty *et al.*, 2013; Pretzer, 2008; Smith, 2006). Esta hormona é responsável pela proliferação e secreção das glândulas endometriais, pelo encerramento do cérvix, pela inibição da contractilidade do miométrio. Durante o diestro, há uma diminuição da imunidade local uterina, que inclui a diminuição da produção de lactoferrina (Kida *et al.*, 2006), um antimicrobiano natural expresso pelas células epiteliais luminiais e glandulares do endométrio. Observa-se também uma facilitação da adesão bacteriana ao epitélio luminal devido por um lado à diminuição da expressão de mucina (Ishiguro *et al.*, 2007) e por outro ao aumento da expressão de vários carboidratos, como a manose e a glucose (Yasunaga *et al.* 2013). Desta forma criam-se condições propícias ao crescimento bacteriano e ao estabelecimento da infeção bacteriana no útero.

Em ambos as espécies em estudo, o intervalo de tempo médio entre o último cio e o diagnóstico da piómetra foi semelhante, cerca de 5,5 semanas. o que está de acordo com o observado por outros autores (Fukuda, 2001; Johnston, *et al.*, 2001; Hollinshead & Krekeler 2016).

Embora, na cadela, a duração do diestro seja de 8 semanas, a maioria dos animais apresentou concentrações de progesterona inferiores às esperadas ($3,00 \pm 0,89$ ng/ml) para a altura do diestro em que a piómetra foi diagnosticada. Este facto está associado à indução precoce da luteólise como consequência da produção de prostaglandina F2 α pelo endométrio inflamado (England, 2007, Silva *et al.*, 2010). Neste modo, a concentração de progesterona diminui o que leva a que o cérvix fique patente, o animal apresente corrimento vulvar, e a

piómetra seja classificada como aberta. Na gata, o intervalo entre o diagnóstico de piómetra e o último cio detetado foi de 5,6 semanas. No entanto, a duração do diestro não gestante é em média de 35-40 dias (Wildt et al., 1981). Os nossos resultados sugerem que o aparecimento do corrimento vulvar (em 82% das gatas) foi coincidente com a luteólise funcional fisiológica do corpo lúteo.

A avaliação citológica do corrimento vaginal, não só permite caracterizar o tipo de células de reação inflamatória, mas também o tipo de células que reveste a mucosa vaginal. A presença de células superficiais queratinizadas no diestro indica influência estrogénica, numa altura em que a ação da progesterona é dominante e deve levantar suspeitas sobre a presença de estruturas foliculares persistentes no ovário (quistos foliculares) ou tumores ováricos secretores (Mary, 2007; Singh et al., 2016), que devem ser avaliadas. No nosso trabalho, citologias com 10% a 30% de células superficiais queratinizadas e/ou células intermédias com algum grau de queratinização estiveram associadas com a presença simultânea de quistos foliculares e corpos lúteos, quer na cadela quer na gata. Os quistos foliculares são mais comuns em cadelas e gatas mais velhas (Johnston, *et al.*, 2001), o que explica o facto de no presente trabalho a prevalência ter sido significativamente superior nas cadelas. A presença de tumores ovários foi diagnosticada em 23% das cadelas, sendo que em 70% dos casos esteve associada a o isolamento de outras bactérias que não a *E. coli*. O facto de somente se terem observado tumores ováricos na cadela poderá estar relacionado com a menor idade das gatas em estudo, uma vez que os tumores ováricos estão geralmente associados a fêmeas de meia idade a geriátricas (Johnston, *et al.*, 2001).

A influência estrogénica, numa altura em que a ação da progesterona é dominante está associada a um risco acrescido de desenvolvimento de piómetra (Smith, 2006). Isto ocorre devido a um prolongamento do período de patência do cérvix, o que facilita a contaminação ascendente do útero. Acresce o facto de os estrogénios potenciarem a ação da progesterona ao aumentarem o número dos seus recetores no útero (Dhaliwal, England, & Noakes, 1999). Como consequência ocorre o desenvolvimento de hiperplasia quística do endométrio, que é um fator predisponente importante para o desenvolvimento de piómetra (Hagman, 2011; Schlafer, 2012).

Na cadela, a maioria das piómetras foram classificadas como hiperplásicas, o que está de acordo com os resultados de De Bosschere et al. (2001). Esta classificação deveu-se à presença de hiperplasia quística do endométrio. Esta ocorre em resposta a uma estimulação crónica e repetida de progesterona, tendo um desenvolvimento gradual e cumulativo ao longo de vários ciclos éstricos (Dow, 1958; England, 2009; revisto por Mateus & Eilts, 2010). Por outro lado, a piómetra atrófica foi mais prevalente na gata. O facto de serem animais mais jovens, poderá não ter permitido o desenvolvimento de HQE por estimulação crónica do

endométrio pela progesterona. A gata sendo uma espécie que apresenta maioritariamente ovulação induzida, não está exposta em todos os ciclos à influência da P4.

Interessantemente, através da observação das concentrações de progesterona, bem como de estruturas ováricas (corpo hemorrágico, corpo lúteo ou corpo albicans), este estudo mostra que na gata, a ovulação não é exclusivamente induzida, como tradicionalmente descrito (Goodrowe, *et al.*, 1989). No nosso estudo 80% das fêmeas provavelmente teve ovulação espontânea, o que está de acordo com outros autores (Gudermuth dF, Newton L, Daels P & Concannon P, 1997). A ovulação pode ser despoletada por estímulo não-coital, designadamente olfatório, visual (Lawler *et al.*, 1993), interações fêmea-fêmea (Gudermuth, Newton, Daels & Concannon, 1997), ou pode mesmo ter ocorrido a chamada ovulação espontânea “verdadeira”, termo avançado por Pelican *et al.* (2006), o qual engloba fêmeas que, mantidas em separado de machos ou outras fêmeas, sem qualquer contacto físico, visual ou olfatório, mostraram evidência de ovulação (80 % no nosso estudo).

Alguns autores sugerem que a gestação possa ter um papel protetor no desenvolvimento de piómetra. No nosso estudo 79% das cadelas eram nulíparas, sendo as restantes primíparas. Neste último grupo de animais o desenvolvimento da piómetra ocorreu em média 7,7 anos após a gestação, o que está de acordo com o previamente descrito (Fukuda, 2001) em que a piómetra ocorreu entre 5 a 10 anos após a última gestação. Assim, o reduzido número de cadelas primíparas em que foi diagnosticado piómetra evidencia a existência de um possível mecanismo protetor da gestação no desenvolvimento de piómetra, tal como anteriormente sugerido. De igual forma, neste estudo 70% das gatas que desenvolveram piómetra eram nulíparas e nas restantes (primíparas), a piómetra ocorreu 4,9 meses após a gestação. Vários autores (Ramagnoli, 2003; Hollinshead & Krekeler, 2016) sugerem que, tal como nas cadelas, as gatas nulíparas apresentam maior predisposição para o desenvolvimento de piómetra, o que parece estar de acordo com os resultados obtidos neste trabalho. Contudo, outros autores (Agudelo, 2005; Pires *et al.*, 2016) sugerem que o número de partos não parece influenciar a incidência de piómetra na gata. Acresce ainda o fato de 30% das gatas terem sido sujeitas à ação de anticoncepcionais, fator que também predispõe ao aparecimento de piómetra (Keskin A, Yilmazbas G, Yilmaz R, Ozyigit MO, Gumen A, 2009; Pires *et al.*, 2016).

A prevalência dos sinais clínicos observada neste estudo está de acordo com o descrito em trabalhos anteriores (Kaymaz *et al.*, 1999; Kenney KJ, *et al.*, 1987, citado por Johnston, *et al.*, 2001; R. Hagman *et al.*, 2006; Bigliardi *et al.*, 2004; England *et al.*, 2007; Maddens *et al.*, 2010; Evangelista *et al.*, 2011). Embora menos exuberantes na gata, os sinais clínicos detetados pelos tutores, comuns a ambas espécies foram o corrimento vulvar, a prostração e a anorexia. Interessantemente, a poliúria e a polidipsia (PU/PD), observado em 93% das cadelas, só foi observada em 9% das gatas. A PU/PD observada na cadela é consequência de uma

diminuição da sensibilidade dos túbulos renais à ação da hormona anti-diurética (ADH), como resposta à endotoxina libertada pela *E. coli* (Feldman & Nelson, 1982), o que pode resultar em diabetes nefrogénico insípidos secundário. Na gata, a quase ausência de PU/PD manifestada sugere uma menor sensibilidade dos recetores de ADH à ação da endotoxina. Embora o mecanismo ainda não esteja completamente esclarecido, vários trabalhos apontam para uma maior resistência dos gatos à ação das endotoxinas de uma forma generalizada (van Miert & Frens, 1968; Ragnvi Hagman, Strom Holst, Muller, & Egenvall, 2014). Associado a esta maior resistência da gata aos efeitos da endotoxina, destaca-se ainda o facto de esta espécie ser conhecida por mascarar sinais de doença, o que também pode justificar a menor evidência dos sinais clínicos, sendo estes apenas evidentes numa situação de sépsis (Morris, 1997; Ragnvi Hagman, Strom Holst, Muller, & Egenvall, 2014).

No presente trabalho a SRIS foi detetada na maioria das cadelas (80%), o que está de acordo com os resultados anteriormente descritos (Pelander et al., 2008). Pelo contrário, apenas 9% das gatas desenvolveram SRIS, número muito inferior aos 86% reportados por Hagman et al. (2009) em gatas com piómetra. Esta discrepância poderá estar associada ao momento em que foi feito o diagnóstico de piómetra em ambos os estudos.

Ao exame físico, a maioria das cadelas apresentou taquicardia (53%) e taquipneia (53%), sendo que os restantes parâmetros encontravam-se, maioritariamente, dentro dos valores de referência. No caso da gata, apesar da taquipneia (36%) e a hipertermia (27%) terem sido as alterações mais evidentes, na maioria dos casos os parâmetros analisados encontravam-se normais. Uma vez que a hiper/hipotermia, a taquicardia, mucosas hiperémicas e a taquipneia são alterações físicas associadas à endotoxémia (Brady, Otto, Van Winkle, & King, 2000), é possível que a não deteção de alterações nestes parâmetros ao exame físico na gata esteja também associada com uma maior resistência à ação das endotoxinas, tal como sugerido por Ragnvi Hagman et al. (2014).

As principais alterações detetadas na maioria dos leucogramas das cadelas e das gatas em estudo foram a leucocitose marcada e a neutrofilia com desvio à esquerda que se correlacionam com a gravidade e a cronicidade do processo (Johnson, 1995; Feldman e Nelson, 1996; Hagman et al., 2005; Hollinshead & Krekeler, 2016)). No entanto, verificou-se uma diferença significativa entre a proporção de cadelas e gatas com monocitose e com diminuição do hematócrito, alterações com maior significado na cadela. A anemia foi menos evidente nas gatas em estudo devido ao facto de, tal como anteriormente descrito (Traas. A, 2010; Hollinshead & Krekeler, 2016), esta espécie apresentar menor sensibilidade à endotoxémia. A maioria dos parâmetros de bioquímica clínica não apresentou alteração, o que pode estar relacionado com o facto da maioria das piómetras ser aberta e com bom prognóstico.

CONCLUSÃO

Em ambas as espécies, *Escherichia coli* pertencente ao grupo filogenético B2 foi a bactéria mais frequentemente isolada. No entanto, o fenótipo hemolítico foi mais frequente nos isolados de gata, o que poderá ser responsável pelas alterações histológicas mais marcadas ao nível do útero.

O facto de as gatas apresentarem sinais clínicos menos exuberantes e desenvolveram piómetra numa idade mais precoce da sua vida reprodutiva chama a atenção para a importância de uma anamnese e exame físico completo e exaustivo.

A presença de tumores em cadelas de idade avançada, salienta a importância do envio destes órgãos para análise histopatológica após a ovariectomia.

BIBLIOGRAFIA

- Agudelo, C. F. (2005). Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in cats. A review. *The Veterinary Quarterly*, 27(4), 173–182. <https://doi.org/10.1080/01652176.2002.9695198>
- ALLEN, W. E. (1986). Pseudopregnancy in the bitch: the current view on aetiology and treatment. *Journal of Small Animal Practice*, 27(7), 419–424. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1986.tb03959.x>
- ARNOLD, S., HUBLER, M., CASAL, M., FAIRBURN, A., BAUMANN, D., FLUECKIGER, M., & RUESCH, P. (1988). Use of low dose prostaglandin for the treatment of canine pyometra. *Journal of Small Animal Practice*, 29(5), 303–308. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1988.tb02288.x>
- Arnold, S., Reichler, I., & Hubler, M. (2006). Canine Pyometra: New Approaches To an Old Disease. *Ivis*, (3), 1–2.
- Arora, N., Sandford, J., Browning, G. F., Sandy, J. R., & Wright, P. J. (2006). A model for cystic endometrial hyperplasia/pyometra complex in the bitch. *Theriogenology*, 66(6–7), 1530–1536. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.02.019>
- Baan, M., Taverne, M. A. M., de Gier, J., Kooistra, H. S., Kindahl, H., Dieleman, S. J., & Okkens, A. C. (2008). Hormonal changes in spontaneous and aglépristone-induced parturition in dogs. *Theriogenology*, 69(4), 399–407. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.10.008>
- Bien, J., Sokolova, O., & Bozko, P. (2012). Role of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage. *International Journal of Nephrology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/681473>
- Bigliardi, E., Parmigiani, E., Cavirani, S., Luppi, A., Bonati, L., & Corradi, A. (2004). Ultrasonography and Cystic Hyperplasia – Pyometra Complex in the Bitch. *Reproduction in Domestic Animals*, 39(3), 136–140.
- Brady, C. a, Otto, C. M., Van Winkle, T. J., & King, L. G. (2000). Severe sepsis in cats: 29 cases (1986-1998). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217(4), 531–535. <https://doi.org/10.2460/javma.2000.217.531>
- Brito, B. G. de, Vidotto, M. C., Berbel, M. M., & Tagliari, K. C. (2004). Fatores de virulência presentes em amostras de *Escherichia coli* uropatogênicas - UPEC para suínos. *Ciência Rural*, 34(2), 645–652. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782004000200050>
- Carreira, P. (2005). Hiperplasia quística do endométrio em cadelas. *Revista Portuguesa*

- Chen, Y. M. M., Wright, P. J., Lee, C. S., & Browning, G. F. (2003). Uropathogenic virulence factors in isolates of *Escherichia coli* from clinical cases of canine pyometra and feces of healthy bitches. *Veterinary Microbiology*, 94(1), 57–69. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(03\)00063-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(03)00063-4)
- Clermont, O., Bonacorsi, S., Bingen, E., & Bonacorsi, P. (2000). Rapid and Simple Determination of the *Escherichia coli* Phylogenetic Group. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(10), 4555–4558. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.10.4555-4558.2000>.Updated
- Corrada, Y., Arias, D., Rodríguez, R., Tortora, M., & Gobello, C. (2006). Combination dopamine agonist and prostaglandin agonist treatment of cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Theriogenology*, 66(6–7), 1557–1559. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.004>
- Dabrowski, R., Wawron, W., & Kostro, K. (2007). Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with pyometra. *Theriogenology*, 67(2), 321–327. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.07.019>
- Dahlgren, S. S., Gjerde, B., & Pettersen, H. Y. (2007). First record of natural *Tritrichomonas foetus* infection of the feline uterus. *Journal of Small Animal Practice*, 48(11), 654–657. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2007.00405.x>
- Davidson AP, Feldman EC, Nelson RW: Treatment of pyometra in cats using prostaglandin F2 alpha: 21 cases (1982-1990). *J Am Vet Med Assoc* 200:825, 1992.
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Vermeirsch, H., Van Den Broeck, W., & Coryn, M. (2001). Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: Should the two entities be disconnected? *Theriogenology*, 55(7), 1509–1519. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00498-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00498-8)
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Tshamala, M., & Coryn, M. (2002a). Changes in sex hormone receptors during administration of progesterone to prevent estrus in the bitch. *Theriogenology*, 58(6), 1209–1217. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00951-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00951-2)
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Vermeirsch, H., Simoens, P., & Coryn, M. (2002b). Estrogen- and progesterone receptor expression in cystic endometrial hyperplasia and pyometra in the bitch. *Animal Reproduction Science*, 70(3–4), 251–259. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00013-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00013-1)
- Dhaliwal, G. K., Wray, C., & Noakes, D. E. (1998). Uterine bacterial flora and uterine lesions

- in bitches with cystic endometrial hyperplasia (pyometra). *The Veterinary Record*, 143, 659–661.
- Doumith, M., Day, M. J., Hope, R., Wain, J., & Woodford, N. (2012). *Escherichia coli*, (July). <https://doi.org/10.1128/JCM.01468-12>
- Doye, A., Mettouchi, A., Bossis, G., Clément, R., Buisson-Touati, C., & Flatau, G. (2002). CNF1 exploits the ubiquitin-proteasome machinery to restrict Rho GTPase activation for bacterial host cell invasion. *Cell*, 111(4), 553–564. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)01132-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)01132-7)
- Dow, C. (1958). The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *The Veterinary Record*, 70, 1102-1108.
- Duriez, P., Clermont, O., Bonacorsi, S., Bingen, E., Chaventré, A., Elion, J., ... Denamur, E. (2001). Commensal *Escherichia coli* isolates are phylogenetically distributed among geographically distinct human populations . Commensal *Escherichia coli* isolates are phylogenetically distributed among geographically distinct human population, (September), 1671–1676.
- Egenvall, A., Hagman, R., Bonnett, B. N., Hedhammar, A., Olson, P., & Lagerstedt, a S. (2001). Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 15(6), 530–538. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2001.tb01587.x>
- Emody, L., Kerényi, M., & Nagy, G. (2003). Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 22(SUPPL. 2). [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(03\)00236-X](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(03)00236-X)
- England, G. C. W., Freeman, S. L., & Russo, M. (2007). Treatment of spontaneous pyometra in 22 bitches with a combination of cabergoline and cloprostenol. *The Veterinary Record*, 160(9), 293–296. <https://doi.org/10.1136/vr.160.9.293>
- Escobar-Páramo, P., Clermont, O., Blanc-Potard, A. B., Bui, H., Le Bouguénec, C., & Denamur, E. (2004). A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. *Molecular Biology and Evolution*, 21(6), 1085–1094. <https://doi.org/10.1093/molbev/msh118>
- Evangelista, L. S. M., Quessada, A. M., Lopes, R. R. F. B., Alves, R. P. A., Goncalves, L. M. F., & Drumond, K. O. (2011). Clinic and laboratory profile of queens with pyometra before and after ovari-hysterectomy. Perfil Clínico E Laboratorial de Gatas Com Piometra Antes E Apos Ovario-Histerectomia., 35(3), 347–351. Retrieved from <http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/v35n3/pag347-351.pdf>

- Feldman, Edward C.; Nelson, R. W. (2004). CANINE AND FELINE ENDOCRINOLOGY AND REPRODUCTION, (3o Edição, pp. 752-773-1044–866). Elsevier Science (USA).
- Fieni, F. (2006). Clinical evaluation of the use of aglepristone, with or without cloprostenol, to treat cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in bitches. *Theriogenology*, 66(6–7), 1550–1556. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.02.009>
- Fiorentini, C., Fabbri, A., Matarrese, P., Falzano, L., Boquet, P., & Malorni, W. (1997). Hinderance of apoptosis and phagocytic behaviour induced by *Escherichia coli* cytotoxic necrotizing factor 1: two related activities in epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 241(2), 341–346. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.7723>
- Fransson, B., Lagerstedt, a S., Hellmen, E., & Jonsson, P. (1997). Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. *Zentralblatt Für Veterinärmedizin. Reihe A*, 44(7), 417–26. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1997.tb01127.x>
- Fukuda, S. (2001). Incidence of pyometra in colony-raised beagle dogs. *Experimental Animals / Japanese Association for Laboratory Animal Science*, 50(4), 325–9. <https://doi.org/10.1538/expanim.50.325>
- Gobello, C., Castex, G., Klima, L., Rodríguez, R., & Corrada, Y. (2003). A study of two protocols combining aglepristone and cloprostenol to treat open cervix pyometra in the bitch. *Theriogenology*, 60(5), 901–908. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00094-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00094-3)
- Goodrowe, K.L., Howard, J.G., Schmidt, P.M., & Wildt, D.E. (1989). Reproductive biology of the domestic cat with special reference to endocrinology, sperm function and in vitro fertilization. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 39, 73-90.
- Hagman, R., & Kühn, I. (2002). *Escherichia coli* strains isolated from the uterus and urinary bladder of bitches suffering from pyometra: Comparison by restriction enzyme digestion and pulsed-field gel electrophoresis. *Veterinary Microbiology*, 84(1–2), 143–153. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00449-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00449-7)
- Hagman, R., & Greko, C. (2005). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from bitches with pyometra and from urine samples from other dogs. *Veterinary Record*, 157(7), 193–197.
- Hagman, R., Kindahl, H., Fransson, B. A., Bergström, A., Holst, B. S., & Lagerstedt, A. S. (2006). Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F2 α metabolite analysis. *Theriogenology*, 66(2), 198–206. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.11.002>
- Hagman, R., Karlstam, E., Persson, S., & Kindahl, H. (2009). Plasma PGF2 α metabolite levels

- in cats with uterine disease. *Theriogenology*, 72(9), 1180–1187.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.06.032>
- Hagman, R., Strom Holst, B., Muller, L., & Egenvall, A. (2014). Incidence of pyometra in Swedish insured cats. *Theriogenology*, 82(1), 114–120.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.03.007>
- Heiene, R., Kristiansen, V., Teige, J., & Jansen, J. H. (2007). Renal histomorphology in dogs with pyometra and control dogs, and long term clinical outcome with respect to signs of kidney disease. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49, 13. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-49-13>
- Heiene, R., Moe, L., & Mølmen, G. (2001). Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra. *Research in Veterinary Science*, 70(2), 129–137. <https://doi.org/10.1053/rvsc.2000.0451>
- Heiene, R., van Vonderen, I. K., Moe, L., Mølmen, G. S., Larsen, N. H., & Kooistra, H. S. (2004). Vasopressin secretion in response to osmotic stimulation and effects of desmopressin on urinary concentrating capacity in dogs with pyometra. *American Journal of Veterinary Research*, 65(4), 404–408. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2004.65.404>
- Henriques, S., Silva, E., Lemsaddek, A., Lopes-da-Costa, L., & Mateus, L. (2014). Genotypic and phenotypic comparison of *Escherichia coli* from uterine infections with different outcomes: Clinical metritis in the cow and pyometra in the bitch. *Veterinary Microbiology*, 170(1–2), 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.01.021>
- Hollinshead, F. (2015). Pyometra in the Queen, (5457), 27–29.
- Hollinshead, F., & Krekeler, N. (2016). Pyometra in the queen: To spay or not to spay? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18(1), 21–33.
<https://doi.org/10.1177/1098612X15623114>
- Ishiguro, K., Baba, E., Torii, R., Tamada, H., Kawate, N., Hatoya, S.,...Inaba, T. (2007). Reduction of mucin-1 gene expression associated with increased *Escherichia coli* adherence in the canine uterus in the early stage of dioestrus. *Veterinary Journal*, 173(2), 325–332.
- Jitpean, S., Ambrosen, A., Emanuelson, U., & Hagman, R. (2016). Closed cervix is associated with more severe illness in dogs with pyometra. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 11.
<https://doi.org/10.1186/s12917-016-0924-0>
- Johnson, J. R. (1991). Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clinical*

Microbiology Reviews, 4(1), 80–128. <https://doi.org/10.1128/CMR.4.1.80>.Updated

Johnston, SD; Kustritz MVR; Olson, P. (2001). *Canine and feline theriogenology*. (WB Saunders Company, Ed.). Phyladelphia.

Kaymaz, M., Baştan, A., Erünal, N., Aslan, S., & Findik, M. (1999). The Use of Laboratory Findings in the Diagnosis of CEH – Pyometra Complex, 23, 127–133.

Keskin, A., Yilmazbas, G., Yilmaz, R., Ozyigit, M. O., & Gumen, A. (2009). Pathological abnormalities after long-term administration of medroxyprogesterone acetate in a queen. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(6), 518–521. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2008.10.006>

Kida, K., Baba, E., Torii, R., Kawate, N., Hatoya, S., Wijewardana, V., ... Inaba, T. (2006). Lactoferrin expression in the canine uterus during the estrous cycle and with pyometra. *Theriogenology*, 66(5), 1325–1333. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.028>

Krekeler, N., Marenda, M. S., Browning, G. F., Holden, K. M., Charles, J. A., & Wright, P. J. (2013). The role of Type 1, P and S fimbriae in binding of *Escherichia coli* to the canine endometrium. *Veterinary Microbiology*, 164(3–4), 399–404. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.02.028>

Lawler dF, Johnston Sd, Hegstad RL, Keltner DG & Owens SF. Ovulation without cervical stimulation in domestic cats. *J Reprod Fertil Suppl* 1993; 47: 57–61.

M. Niskanen; M.V.Thrusfield. (1998). Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs, (Nctc 10234), 37–41.

Maddens, B., Daminet, S., Smets, P., & Meyer, E. (2010). *Escherichia coli* Pyometra Induces Transient Glomerular and Tubular Dysfunction in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(6), 1263–1270. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0603.x>

Mary, K. K. (2007). Tumors of the female reproductive system. In D. Vail (Ed.), *Small Animal Clinical Oncology* (pp. 610–619). Saunders.

Mateus, L., & Eilts, B. E. (2010). Cystic Endometrial Hyperplasia and Pyometra. In *Textbook of veterinary internal medicine : diseases of the dog and the cat* (7th ed., pp. 1913–1920).

Mateus, L., Henriques, S., Merino, C., Pomba, C., Lopes da Costa, L., & Silva, E. (2013). Virulence genotypes of *Escherichia coli* canine isolates from pyometra, cystitis and fecal origin. *Veterinary Microbiology*, 166(3–4), 590–594. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.07.018>

Miethke, M., Marahiel, M. A., (2007). Siderophore- based iron acquisition and pathogen control. *Microbiol. Mol. Biol. Ver.* 71, 413-451

- Moriel, D. G., Rosini, R., Seib, K. L., Serino, L., Pizza, M., & Rappuoli, R. (2012). *Escherichia coli*: Great Diversity around a Common Core, 3(3), 6–8. <https://doi.org/10.1128/mBio.00118-12>. Editor
- Morris, D (1997). *Cat World: A Feline Encyclopedia* (1^o ed.) New York: Viking Adult
- Nelson RW, Feldman EC, Stabenfeldt GH: Treatment of canine pyometra and endometritis with prostaglandin F2alpha. *J Am Vet Med Assoc* 181:809, 1982.
- Pelander, L., Hagman, R., & Häggström, J. (2008). Concentrations of cardiac Troponin I before and after ovariohysterectomy in 46 female dogs with pyometra. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50, 35. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-50-35>
- Pires, A., Vilhena, H., Miranda, S., Pereira, M. T., Seixas, F., & Saraiva, A. L. (2016). Proliferative Endometrial Lesions Hidden behind the Feline Pyometra, 227–242.
- Pöppl, Á. G. (2008). *Avaliação da influência do ciclo Estral E Da Hiperplasia Endometrial Cística-Piometra Sobre a Sensibilidade À Insulina E Característica Da Ligação Hormônio-Receptor Em Músculo De Fêmeas Caninas*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Retrieved from <http://www.lume.ufrgs.br/sci-hub.org/handle/10183/13851>
- Pretzer, S. D. (2008). Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: A review. *Theriogenology*, 70(3), 359–363. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.028>
- Ramagnoli, S. (2003). Clinical approach to infertility in the queen. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 5(2), 143–146. [https://doi.org/10.1016/S1098-612X\(02\)00131-6](https://doi.org/10.1016/S1098-612X(02)00131-6)
- Randels, A., & Ecc, V. T. S. (2013). Response Syndrome, (February), 1–7.
- Rijnberk, A., & Brom, V. den. (2009). Methods and instruments. In *Medical history and physical examination in companion animals* (pp. 17–26). 2.
- Russo, T. A., & Johnson, J. R. (2000). Proposal for a New Inclusive Designation for Extraintestinal Pathogenic Isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *The Journal of Infectious Diseases*, 181, 1753–4. <https://doi.org/10.1086/315418>
- Schlafer, D. H., & Gifford, A. T. (2008). Cystic endometrial hyperplasia, pseudo-placentational endometrial hyperplasia, and other cystic conditions of the canine and feline uterus. *Theriogenology*, 70 (3), 349-358. doi: 10.1016/j.theriogenology.2008.04.041.
- Singh, A. K., Honparkhe, M., Dalal, J., Kumar, R., Gupta, K., & Singla, V. K. (2016). A rare case of ovarian papillary adenocarcinoma in a bitch. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(4), 354–355. <https://doi.org/10.1016/j.apjr.2016.06.016>
- Siqueira, A. K., Ribeiro, M. G., Leite, D. da S., Tiba, M. R., Moura, C. de, Lopes, M. D., ...

- Silva, A. V. da. (2009). Virulence factors in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection and pyometra cases and from feces of healthy dogs. *Research in Veterinary Science*, 86(2), 206–210. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.07.018>
- Smith O, F. . (2006). Canine pyometra. *Theriogenology*, 66(3 SPEC. ISS.), 610–612. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.023>
- Sousa, C. P. (2006). The versatile strategies of *Escherichia coli* pathotypes: a mini review. *Review Literature And Arts Of The Americas*, 12(13), 363–373. <https://doi.org/10.1590/S1678-91992006000300002>
- Sugiura, K., Nishikawa, M., Ishiguro, K., Tajima, T., Inaba, M., Torii, R., Inaba, T. (2004). Effect of ovarian hormones on periodical changes in immune resistance associated with estrous cycle in the beagle bitch. *Immunobiology*, 209(8), 619–627. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2004.09.003>
- Tramuta, C., Nucera, D., Robino, P., Salvarani S. & Nebbia P. (2011). Virulence factors and genetic variability of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Italy. *Journal Veterinary science*, 12(1): 49–55
- Valdebenito, M., Crumbliss, A. L., Winkelmann, G., & Hantke, K. (2006). Environmental factors influence the production of enterobactin, salmochelin, aerobactin, and yersiniabactin in *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(8), 513–520. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2006.06.003>
- van Miert, A. S. J. P. A. M., & Frens, J. (1968). The Reaction of different animal Species to Bacterial Pyrogens. *Zentralblatt Für Veterinärmedizin Reihe A*, 15(6), 532–543. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1968.tb00456.x>
- Ververidis, H. N., Boscós, C. M., Stefanakis, A., Saratsis, P., Stamou, A. I., & Krambovitis, E. (2004). Serum estradiol-17B progesterone and respective uterine cytosol receptor concentrations in bitches with spontaneous pyometra. *Theriogenology*, 62(3–4), 614–623. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.11.011>
- Verstegen, J., Dhaliwal, G., & Verstegen-Onclin, K. (2008). Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. *Theriogenology*, 70(3), 364–374. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.036>
- Wadås, B., Kühn, I., Lagerstedt, A. S., & Jonsson, P. (1996). Biochemical phenotypes of *Escherichia coli* in dogs: comparison of isolates isolated from bitches suffering from pyometra and urinary tract infection with isolates from faeces of healthy dogs. *Veterinary Microbiology*, 52, 293–300. [http://doi.org/10.1016/S0378-1135\(96\)00067-3](http://doi.org/10.1016/S0378-1135(96)00067-3)

- Watts, J. R., Wright, P. J., & Whithear, K. C. (1996). Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *The Journal of Small Animal Practice*, 37(2), 54–60. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1996.tb01936.x>
- Wiebe, V. J., & Howard, J. P. (2009). Pharmacologic Advances in Canine and Feline Reproduction. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24(2), 71–99. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2008.12.004>
- Wildt, D.E., Chan, S.Y.W., Seager, S.W.J. & Chakraborty, P.K. (1981). Ovarian activity, circulating hormones, and sexual behavior in the cat. I. Relationships during the coitus induced luteal phase and the estrous period without mating. *Biology of Reproduction*, 25(1), 15-28. Acedido em: Set. 5, 2009, disponível em: <http://www.biolreprod.org/>
- Willis, L. M.; Whitfield, C. (2013). *Escherichia coli: Pathotypes and principles of pathogenesis*. (Elsevier, Ed.) (2º). London, UK.
- Yasunaga, Y., Takeuchi, T., Shimokawa, T., Asano, A., Nabeta, M., & Ohta, Y. (2013). Sugar expression in the mucosae of the canine uterus and vagina during the oestrous cycle and with pyometra. *The Veterinary Journal*, 196 (1), 116-118. doi: 10.1016/j.tvjl.2012.08.008

ANEXOS

Anexo 1



Pyometra in the bitch and in the queen: differences and similarities.

Inês Machado ⁽¹⁾; Carla Carneiro ⁽²⁾; Luís Belo ⁽¹⁾; Sílvia Cruz ⁽⁴⁾; Joana Gomes ⁽³⁾; Luisa Mateus ^(2,3).

Integrated Master Student of Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Portugal ⁽¹⁾
CIISA, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Portugal ⁽²⁾.
Teaching Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Portugal ⁽³⁾,
Clínica IZQC Tercena - LPDA, Lisbon, Portugal ⁽⁴⁾

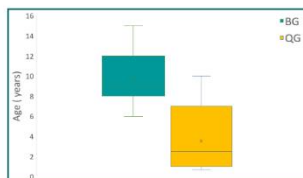


INTRODUCTION

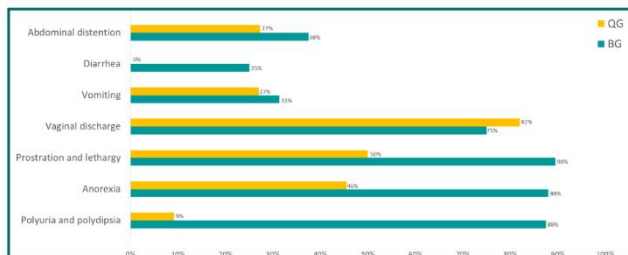
Pyometra, the most important uterine disease in diestrous intact bitches, often results in the loss of breeding potential and in a life threatening scenario. The study of pyometra in queens is not well documented since queens do not express clinical signs in the same extension and due to the fact that they are induced ovulators. However, in both cases, *Escherichia coli* is the most frequent isolated bacterium ^(1,2). The aim of the present work was to compare clinical signs and haematological parameters in bitches and queens with *E. coli* pyometra.

RESULTS

1. *E. coli* was isolated in 16 bitches (BG) and 11 queens (QG), with a mean age of 9.7 ± 0.7 y and 3.5 ± 1.2 y, respectively ($p < 0.0001$).



2. CLINICAL SIGNS



- Significant differences were detected in the following parameters: polyuria and polydipsia ($p < 0.001$); anorexia ($p < 0.05$); prostration and lethargy ($p < 0.05$).

- No significant differences were detected in cervical patency; vomiting; diarrhea and abdominal distention.

3. HAEMATOLOGIC ANALYSIS

- No significant differences between groups were detected, excepted for monocytosis ($p < 0.05$) and a slight decrease in Hg concentrations ($p = 0.07$).

- In both groups, animals present leukocytosis due to neutrophilia, lower number of erythrocytes and lower hematocrit.

| Hemogram | BG | | | | QG | | | |
|-------------------|--------------------------------|--------|-----------|-----------|-------------------------------|--------|-----------|-----------|
| | Reference values | Normal | Increased | Decreased | Reference values | Normal | Increased | Decreased |
| Leukocytes | 6-17 x10 ³ /µL | 19% | 81% | 0% | 5.5-19.5 x10 ³ /µL | 27% | 73% | 0% |
| Erythrocytes | 5-8.5 x10 ³ /µL | 53% | 0% | 47% | 5-10 x10 ³ /µL | 82% | 0% | 18% |
| Platelets | 200-500 x10 ³ /µL | 63% | 0% | 27% | 300-700 x10 ³ /µL | 63% | 0% | 37% |
| Hemoglobin | 12-18 g/dl | 69% | 0% | 31% | 8-15 g/dl | 100% | 0% | 0% |
| Hematocrit | 37-55 % | 56% | 0% | 44% | 24-45% | 91% | 0% | 1% |
| MCV | 60-77 fl | 80% | 7% | 13% | 39-55 fl | 82% | 9% | 9% |
| MCH | 19.5-24.5 pg | 93% | 7% | 0% | 12.5-17.5 pg | 82% | 18% | 0% |
| MCHC | 32-36 g/dl | 60% | 33% | 7% | 30-66 g/dl | 60% | 30% | 10% |
| Total Neutrophils | 3-11.5 x10 ³ /µL | 19% | 81% | 0% | 2.5-12.5 x10 ³ /µL | 27% | 73% | 0% |
| Lymphocytes | 1-4.8 x10 ³ /µL | 67% | 27% | 6% | 1.5-7.0 x10 ³ /µL | 73% | 9% | 18% |
| Monocytes | 0.15-1.35 x10 ³ /µL | 27% | 73% | 0% | 0-850 µL | 73% | 27% | 0% |
| Eosinophils | 0.1-1.25 x10 ³ /µL | 67% | 6% | 27% | 0-1.5 x10 ³ /µL | 73% | 27% | 0% |
| Basophils | raros | 100% | 0% | 0% | raros | 91% | 9% | 0% |

MATERIAL & METHODS

Animals:

- 24 bitches
 - 12 queens
-] were ovariectomized due to pyometra diagnosis

This diagnosis was based on:

- Anamnesis
- Clinical signs
- Ultrasonography
- Blood sample for haematologic and biochemical analysis (prior to OVX)
- Bacteriological isolation from uterine content

4. BIOCHEMICAL ANALYSIS

- Most parameters were within normal range and no significant differences between groups were detected.

| Serum biochemistry | BG | | | | QG | | | |
|--------------------|-----------------------------|--------|-----------|-----------|------------------|--------|-----------|-----------|
| | Reference values | Normal | Increased | Decreased | Reference values | Normal | Increased | Decreased |
| Albumin | 6-17 x10 ³ µL | 80% | 0% | 20% | 2.5-3.9 g/dl | 90% | 0% | 10% |
| ALT | 5-8.5 x10 ³ µL | 93% | 7% | 0% | 10-75 U/L/37°C | 91% | 0% | 9% |
| FA | 200-500 x10 ³ µL | 73% | 7% | 0% | 0-90 U/L/37°C | 91% | 9% | 0% |
| Total proteins | 12-18 g/dl | 71% | 29% | 0% | 6-82 g/dl | 60% | 30% | 10% |
| Urea | 37-55 % | 79% | 14% | 14% | 30-60 mg/dl | 64% | 36% | 0% |
| Creatinine | 60-77 fl | 80% | 7% | 13% | 0.84-2.04 mg/dl | 82% | 0% | 18% |

CONCLUSIONS

- *E. coli* was the most frequent bacteria isolated in both species;
- In this study, queens developed pyometra at an earlier age, probably due to the fact that they were under the influence of progestogens or spontaneously ovulated;
- Queens present less clinical signs, which may render the diagnosis of pyometra more difficult. This fact shows the importance of a good and complete anamnesis and physical examination.



Figure 1. Pyometra in a 7-year-old bitch.



Figure 2. Pyometra in a queen with 9 months.

- (1) Verstegen J, Onclin K. 2006. Proc North Am Vet Conf; January 7–11, Orlando, FL, USA;
(2) Mateus L et al., 2013. Vet. Microbiol. 166: 590–59.

Grant FCT: UID/CVT/00276/2013; Grant CIISA MIVM 9.2016

Anexo 2- Ficha clínica

| Ficha clínica | |
|---|---|
| Nome do proprietário: | <u>Temperatura corporal:</u> _____ °C |
| Nome do animal: | Idade: _____ |
| Espécie: cadela <input type="radio"/> gata <input type="radio"/> | Animal de: rua <input type="radio"/> |
| Vacinada <input type="radio"/> Desparasitada <input type="radio"/> | casa <input type="radio"/> com acesso ao exterior <input type="radio"/> |
| Condição corporal (1 a 5): _____ | canil/ ratil <input type="radio"/> |
| Alimentação: _____ se ração, qual a marca: _____ | |
| Data do último cio: _____ Nº deaios/ano: _____ | |
| Nº e género de animais que coabita: _____ | |
| Ninhadas anteriores: sim <input type="radio"/> não <input type="radio"/> | |
| Plómetras anteriores: sim <input type="radio"/> não <input type="radio"/> | |
| Métodos contraceptivos: sim <input type="radio"/> não <input type="radio"/> | |
| Plómetra: aberta <input type="radio"/> fechada <input type="radio"/> | Tipo de corrimento: _____ |
| | Início do corrimento: _____ |
| Poliúria: sim <input type="radio"/> não <input type="radio"/> | Polidipsia: sim <input type="radio"/> não <input type="radio"/> |
| | Vómito: sim <input type="radio"/> não <input type="radio"/> |
| Diarreia: sim <input type="radio"/> não <input type="radio"/> | Edema da vulva: sim <input type="radio"/> não <input type="radio"/> |
| | Anorexia: sim <input type="radio"/> não <input type="radio"/> |
| Atitude: normal <input type="radio"/> prostrada <input type="radio"/> agressiva <input type="radio"/> | |
| Medicação antes da cirurgia (qual; duração): _____ | |
| Pele: | |
| coloração: normal <input type="radio"/> pálida <input type="radio"/> icterica <input type="radio"/> vermelho-escura <input type="radio"/> | |
| espessura: normal <input type="radio"/> aumentada <input type="radio"/> diminuída <input type="radio"/> | |
| hidratação: normal <input type="radio"/> ligeira desidratação <input type="radio"/> moderada desidratação <input type="radio"/> | |
| desidratação grave <input type="radio"/> | |
| Mucosas: normal <input type="radio"/> pálida <input type="radio"/> congestionada <input type="radio"/> icterica <input type="radio"/> cianótica <input type="radio"/> | |
| Frequência cardíaca: _____ bpm | TRC: _____ |
| Pulso arterial: | |
| uniforme (sim <input type="radio"/> não <input type="radio"/>) | amplitude (forte <input type="radio"/> fraco <input type="radio"/>) |
| | forma (rápido <input type="radio"/> lento <input type="radio"/>) |
| | ritmo (normal <input type="radio"/> arritmico <input type="radio"/>) |
| | simetria (sim <input type="radio"/> não <input type="radio"/>) |
| Aparelho respiratório: | |
| Frequência respiratória: _____ rpm | |
| profundidade: normal <input type="radio"/> dispneia <input type="radio"/> polipneia térmica <input type="radio"/> | |
| tipo: costal <input type="radio"/> abdominal <input type="radio"/> | |
| ritmo: normal <input type="radio"/> hiperventilação <input type="radio"/> apneia momentânea <input type="radio"/> | |
| Hemograma <input type="radio"/> Bioquímicas (ALT, FAS, Ureia, Creatinina, PT) <input type="radio"/> | |
| Ecografia <input type="radio"/> | |
| Doseamento de progesterona <input type="radio"/> | |
| Citologia vaginal <input type="radio"/> | |
| Análise bacteriológica <input type="radio"/> | |
| Histopatologia: _____ | |

Anexo 3- Sinais clínicos e alterações hematológicas em todos os casos de piômetra

Gráfico 3- Sinais clínicos.

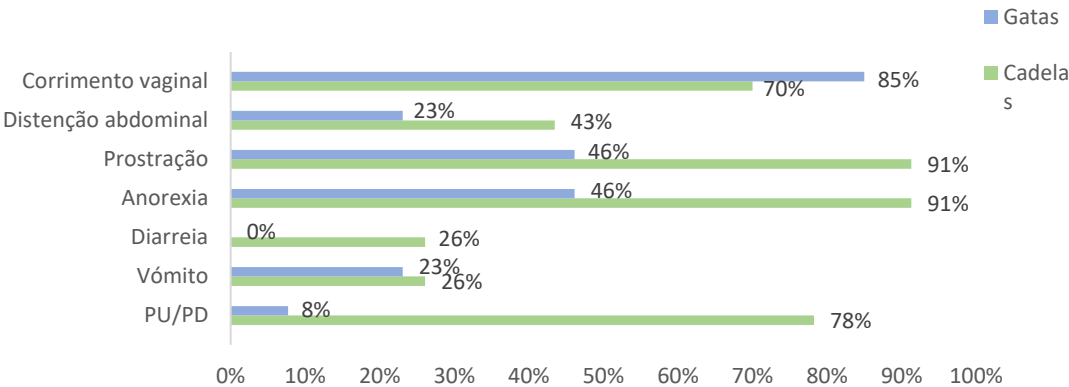


Tabela 19- Exame físico.

| Parâmetros | Cadelas | | | | Gatas | | | |
|------------------|---------------------|--------|-----------|-----------|---------------------|--------|-----------|-----------|
| | Média ± erro padrão | Normal | Diminuído | Aumentado | Média ± erro padrão | Normal | Diminuído | Aumentado |
| Temperatura (°C) | 38,5±0,18 | 65% | 22% | 13% | 38,68±0,24 | 62% | 15% | 23% |
| FC (bpm) | 128,96±4,91 | 48% | 0% | 52% | 167,15±8,41 | 61% | 8% | 31% |
| FR (rpm) | 34,91±4,22 | 48% | 0% | 52% | 36,08±2,71 | 62% | 0% | 38% |
| Hidratação (%) | | 74% | 26% | 0% | | 92% | 8% | 0% |
| Linfonodos | | 96% | 0% | 4% | | 100% | 0% | 0% |

Tabela 20- Hemograma.

| Hemograma | Cadelas | | | | Gatas | | | |
|---|---------------------|--------|-----------|-----------|---------------------|--------|-----------|-----------|
| | Média ± erro padrão | Normal | Aumentado | Diminuído | Média ± erro padrão | Normal | Aumentado | Diminuído |
| Leucócitos (x10 ³ /μL) | 27,45± 2,70 | 22% | 74% | 4% | 34,10± 5,60 | 31% | 69% | 0% |
| Eritrócitos (x10 ³ /μL) | 5,78± 0,30 | 59% | 0% | 41% | 7,29±0,41 | 85% | 15% | 0% |
| Plaquetas (x10 ³ /μL) | 322,91± 60,00 | 47% | 29% | 24% | 211,53±37,12 | 67% | 0% | 33% |
| Hemoglobina (g/dl) | 12,78± 0,69 | 70% | 4% | 26% | 11,22± 0,40 | 100% | 0% | 0% |
| Hematócrito (%) | 36,34± 1,85 | 48% | 0% | 52% | 33,35± 1,54 | 85% | 0% | 15% |
| VCM (fl) | 64,17± 1,02 | 86% | 0% | 14% | 46,73± 1,86 | 77% | 15% | 8% |
| HCM (pg) | 22,45± 0,33 | 91% | 9% | 0% | 15,83± 0,85 | 85% | 15% | 0% |
| CHCM (g/dl) | 35,14± 0,59 | 54% | 41% | 5% | 33,36± 0,81 | 67% | 25% | 8% |
| Neutrófilos totais (x10 ³ /μL) | 21,18± 2,45 | 13% | 87% | 0% | 26,64± 4,25 | 25% | 75% | 0% |
| Linfócitos (x10 ³ /μL) | 3241,91± 369,00 | 77% | 18% | 5% | 4069± 948 | 62% | 15% | 23% |
| Monócitos (x10 ³ /μL) | 2431,78± 403,17 | 27% | 73% | 0% | 2274,46± 1279,70 | 69% | 31% | 0% |
| Eosinófilos (x10 ³ /μL) | 391,95± 88,58 | 68% | 5% | 27% | 1010,08± 304,00 | 77% | 23% | 0% |
| Basófilos | 4,55± 4,55 | 100% | 0% | 0% | 52,31± 21,70 | 92% | 8% | 0% |

Tabela 21- Bioquímicas séricas.

| | Cadelas | | | | Gatas | | | |
|--------------------|---------------------|--------|-----------|-----------|---------------------|--------|-----------|-----------|
| Bioquímicas | Média ± erro padrão | Normal | Aumentado | Diminuído | Média ± erro padrão | Normal | Aumentado | Diminuído |
| Albumina (g/dl) | 2,42± 0,08 | 82% | 0% | 18% | 2,78± 0,14 | 92% | 0% | 8% |
| ALT (UL/37°C) | 34,05± 5,90 | 95% | 5% | 0% | 39,77± 6,09 | 92% | 0% | 8% |
| FAS (UL/37°C) | 168,18± 22,38 | 70% | 30% | 0% | 39,66± 12,58 | 92% | 8% | 0% |
| PT (g/dl) | 7,14± 0,19 | 77% | 23% | 0% | 7,26± 0,39 | 58% | 25% | 17% |
| Ureia (mg/dl) | 41,44± 8,65 | 74% | 17% | 9% | 58,94± 11,49 | 62% | 38% | 0% |
| Creatinina (mg/dl) | 1,19± 0,12 | 78% | 13% | 9% | 1,03± 0,09 | 85% | 0% | 15% |

Anexo 4- Valores de referência relativos ao hemograma, perfil bioquímico e exame de estado geral em cadela e gata.

| | Cadela | Gata |
|--------------------|--------------------------|-------------------------|
| Hemograma | Valores de referência | Valore de referência |
| Leucócitos | 6- 17 x103/ μ L | 5,5- 19,5 x103/ μ L |
| Eritrócitos | 5- 8,5 x103/ μ L | 5- 10 x106/ μ L |
| Plaquetas | 200- 500 x103/ μ L | 300- 700 x103/ μ L |
| Hemoglobina | 12- 18 g/dl | 8- 15 g/dl |
| Hematócrito | 37- 55 % | 24- 45% |
| VCM | 60- 77 fl | 39- 55 fl |
| HCM | 19,5- 24,5 pg | 12,5- 17,5 pg |
| CHCM | 32- 36 g/dl | 30- 66 g/dl |
| Neutrófilos totais | 3- 11,5 x103/ μ L | 2,5- 12,5 x103/ μ L |
| Linfócitos | 1- 4,8 x103/ μ L | 1,5- 7,0 x103/ μ L |
| Monócitos | 0,15- 1,35 x103/ μ L | 0- 850 μ L |
| Eosinófilos | 0,1- 1,25 x103/ μ L | 0- 1,5 x103/ μ L |
| Basófilos | raros | raros |

| | Cadela | Gata |
|-------------|-----------------------|----------------------|
| Bioquímicas | Valores de referência | Valore de referência |
| Albumina | 2,2- 3,5 g/dl | 2,5- 3,9 g/dl |
| ALT | 0- 130 UL/37°C | 10- 75 UL/37°C |
| FA | 200- 500 UL/37°C | 0- 90 UL/37°C |
| PT | 5- 7,5 g/dl | 6- 8,2 g/dl |
| Ureia | 12- 56 mg/dl | 30- 60 mg/dl |
| Creatinina | 0,62- 1,64 mg/dl | 0,8- 2,4 mg/dl |

| | Cadela | Gata |
|--------------|-----------------------|----------------------|
| Exame físico | Valores de referência | Valore de referência |
| FC | 60 a 120 bpm | 120 a 180 bpm |
| FR | 10 a 30 rpm | 20 a 40 rpm |
| Temperatura | 37,8 a 39,3 °C | 38,0 a 39,2 °C |

